

TESIS

**PENGARUH KOMBINASI *LOW LEVEL LASER THERAPY* DAN
SILVER SULFADIAZINE TOPIKAL TERHADAP MAKROFAG
PENGHASIL *FIBROBLAST CROWTH FACTOR* (FGF) DAN
EPIDERMAL GROWTH FACTOR (EGF) PADA PROSES
PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DERAJAT II**

**PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS
PADA MENCIT GALUR BALB/c**



KK
KK. A
TKD. 19 / 11
SHI
P



**NINDYA SHINTA
090810232**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2010**

**PENGARUH KOMBINASI *LOW LEVEL LASER THERAPY* DAN
SILVER SULFADIAZINE TOPIKAL TERHADAP MAKROFAG
PENGHASIL *FIBROBLAST CROWTH FACTOR* (FGF) DAN
EPIDERMAL GROWTH FACTOR (EGF) PADA PROSES
PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DERAJAT II**

TESIS

**Untuk Memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga**

Oleh :

**NINDYA SHINTA
090810232**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2010

Tanggal 30 April 2010

STRABAYA
30 April 2010

LEMBAR PENGESAHAN

Tesis dengan judul '*Pengaruh Kombinasi Low Level Laser Therapy dan Silver Sulfadiazine Topikal terhadap Makrofag Penghasil Fibroblast Growth Factor (FGF) dan Epidermal Growth Factor (EGF) pada Proses Penyembuhan Luka Bakar derajat II*' telah diuji dan disetujui pada tanggal 30 April 2010

Oleh

Pembimbing Ketua



Dr. I Ketut Suidiana, MSi
NIP. 19550705 198003 1 005

Pembimbing



dr. Troef Soemarno, MS, Sp.PA(K)
NIP. 19490211 197802 1 001

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Program Pascasarjana Unirvesitas Airlangga



Prof. Retno Handajani, dr, MS, PhD
NIP. 19481012 197603 2 001

PENETAPAN PANITIA PENGUJI TESIS

Tesis dengan judul '*Pengaruh Kombinasi Low Level Laser Therapy dan Silver Sulfadiazine Topikal terhadap Makrofag Penghasil Fibroblast Growth Factor (FGF) dan Epidermal Growth Factor (EGF) pada Proses Penyembuhan Luka Bakar derajat II*' telah diuji pada tanggal 30 April 2010

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. Paulus Liben, dr, MS
Anggota : 1. Dr. I Ketut Suidiana, Msi
2. dr. Troef Soemarno, MS, Sp.PA(K)
3. Dr. Hari Basuki, dr, M.Kes
4. dr. Tulus Panuwun, MS, Sp.PA(K)
5. Prof. Retno Handajani, dr, MS., Ph.D

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur alhamdulillah terpanjat kehadiran Allah SWT yang melimpahkan rahmat dan kemudahan sehingga penyusunan tesis ini dapat terselesaikan dengan baik. Tesis ini merupakan prasyarat dalam memperoleh gelar Magister Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Terima kasih dan penghargaan disampaikan dengan penuh rasa hormat dan ketulusan hati kepada :

1. Dr. I Ketut Suidiana, MSi, sebagai pembimbing ketua, yang dengan ikhlas, penuh kesabaran dan perhatian telah memberikan waktu, pengarahan, saran, bimbingan, dan dorongan sejak penyusunan usulan penelitian, pelaksanaan penelitian, dan penyusunan tesis.
2. dr. Troef Soemarno, MS, Sp.PA(K), sebagai pembimbing kedua, yang juga dengan ikhlas, penuh kesabaran dan perhatian telah memberikan pengarahan, saran, bimbingan, dan dorongan sejak penyusunan usulan penelitian, pelaksanaan penelitian, dan penyusunan tesis. Dan sekaligus sebagai Ketua Departemen Patobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
3. DR. Hari Basuki, dr, M.Kes, sebagai konsultan biostatistik, yang dengan ikhlas, penuh kesabaran dan perhatian telah memberikan waktu, pengarahan, saran, dan bimbingan mengenai analisis statistik sejak penyusunan usulan penelitian, pelaksanaan penelitian, dan penyusunan tesis.
4. Prof. Dr.Fasichul Lisan, Apt, sebagai Rektor Universitas Airlangga Surabaya.
5. Prof. Dr. Muhammad Amin, dr, SpP(K), sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
6. Prof. Dr. Harjanto JM. dr, AIF, sebagai Ketua Tim Koordinasi Program Studi Magister (TKPSM) Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

7. Prof. Retno Handajani, dr, MS, PhD, sebagai Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar (IKD) Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
8. Tim Penguji Tesis yaitu Prof. Paulus Liben, dr, MS, Prof. Retno Handajani, dr, MS, PhD dan dr. Tulus Panuwun, Sp.PA(K) yang telah memberikan koreksi, saran dan masukan untuk perbaikan tesis ini.
9. Teman seangkatan Minat Studi Patobiologi Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, yaitu Titik Sunaryati, dr; Neny Prasetyaningrum, drg; Luh Ade Wilan Krisna, SSi; dan Wahyudi Widada, SKp, yang telah menjadi sahabat dan saudara selama menempuh pendidikan. Semoga persahabatan kita dapat tetap terjaga.
10. Orang-orang yang berperan dan membantu pelaksanaan penelitian ini yaitu Bapak Heri di Unit Hewan Coba Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Bapak Eko SKM di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD dr. Soetomo, Mbak Leny Amd di Laboratorium GRAMIK Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Satuman Ssi M.Kes di Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Brawijaya, Bapak Mukit dan Bu Endah di Unit Mikroskop Elektron Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Trihartini dr di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
11. Keluarga tercinta yang memberikan dukungan materi, doa, waktu, dan pikiran sehingga saya bisa menyelesaikan pendidikan magister ini, yaitu suamiku tercinta yang saya cintai dan sayangi (Ariadi Nugroho dr) atas segala pengorbanan dalam mengarahkan, membantu dan mendukung saya dalam setiap langkah, semoga keluarga kita menjadi keluarga sakinah mawaddah warahmah di dunia dan akhirat; orang tuaku tersayang yang saya hormati (Yangti Rumpoko, Kakung Sutikno (alm), Uti Sundari AMa, Kakung Wuryadi BE) yang mendukung secara fisik, moral dan spirit, semoga saya dapat membalas jasa dan kebaikannya: anak-anakku tersayang (Nursalim Hibatullah, Najla Rahma, dan Nayfa Rahida) yang juga sedang berjuang untuk menuntut ilmu, semoga kita dapat menjadi

orang yang alim (berpengetahuan luas); serta keluarga besar Wuryadi dan Sutikno lainnya yang mendukung saya dalam menjalani pendidikan magister. Semoga perjuangan ini membawa manfaat dan kebaikan bagi kita semua di dunia dan akhirat.

12. Para bapak dan ibu guru yang telah mendidik saya sejak di SDN Patokan V Situbondo, SMPN 1 Situbondo, SMAN 1 Situbondo, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, dan Program Pascasarjana Ilmu Kedokteran Dasar Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, semoga Allah membalas jasa dan kebaikan bapak dan ibu guru semua.
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, namun tanpa bantuan mereka, penelitian ini tidak dapat berjalan dengan baik.

Permohonan maaf sebesar-besarnya disampaikan kepada semua pihak atas segala sesuatu yang kurang berkenan selama menempuh pendidikan magister ini. Semoga Allah SWT melimpahkan barokah dan rahmatNya bagi kita semua. Amin.

Surabaya, 30 April 2010

Ringkasan

Pengaruh *Low Level Laser Therapy* dan *Silver Sulfadiazine* Topikal terhadap Makrofag Penghasil *Fibroblast Growth Factor* (FGF) dan *Epidermal Growth Factor* (EGF) pada Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat II

Nindya Shinta

Luka bakar merupakan cedera yang sering terjadi dan berpotensi besar menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang cukup tinggi. *Silver sulfadiazine* adalah preparat antimikroba yang sering diberikan untuk pencegahan terhadap infeksi pada lesi luka bakar yang relatif sempit (5-20%). Beberapa penelitian menunjukkan komponen *silver* bersifat toksik terhadap sel tubuh terutama fibroblas dan keratinosit. Kedua sel tersebut berperan dalam proses penyembuhan luka.

Penggunaan *low level laser therapy* untuk merangsang penyembuhan luka telah banyak dilakukan belakangan ini di dalam praktek medis. Hal ini diyakini bahwa foton yang dihasilkan oleh laser dapat merangsang proses proliferasi dan diferensiasi sel mesenkim dalam jaringan luka sehingga penyembuhan luka bisa lebih cepat tercapai. Peran laser pada proses penyembuhan luka bakar masih kontroversial. Beberapa penelitian menunjukkan *low level laser therapy* tidak mempengaruhi proses penyembuhan luka bakar. Tetapi beberapa penelitian lain menunjukkan bahwa *low level laser therapy* dapat menginduksi proses penyembuhan luka bakar.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh *low level laser therapy* terhadap sekresi *Epidermal Growth Factor* (EGF) dan *Fibroblast Growth Factor* (FGF) oleh makrofag pada proses penyembuhan luka bakar derajat II pada mencit jantan galur BALB/c. Luka bakar derajat II dibuat pada bagian punggung dari setiap 24 ekor mencit jantan galur BALB/c dengan teknik pemanasan menggunakan lempeng besi yang dipanaskan dalam air mendidih. 24 ekor mencit tersebut dibagi menjadi tiga kelompok secara acak. Kelompok I (K), lesi luka bakar diirigasi dengan larutan NaCl 0,9% dan dilakukan pembalutan, kelompok II (P1) lesi luka bakar diberikan *silver sulfadiazine* 1% topikal dan dilakukan pembalutan, dan kelompok III (P2) lesi luka bakar disinari dengan laser AlGaInP 4 J/cm² selama 60 detik, *silver sulfadiazine* 1% topikal dan dilakukan pembalutan.

Perlakuan dilakukan sekali sehari dalam jangka waktu 3 hari. Biopsi lesi dilakukan pada hari keempat setelah terjadi luka bakar. Kami mempelajari pengaruh *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal terhadap makrofag penghasil EGF dan makrofag penghasil FGF pada proses penyembuhan luka bakar dengan melakukan pengamatan preparat dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin dan teknik imunohistokimia, menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400x,

Analisis statistik menunjukkan makrofag penghasil FGF dan makrofag penghasil EGF pada kelompok yang diberikan kombinasi *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal lebih tinggi signifikan dibandingkan 2 kelompok lain. Nilai rerata dan simpangan baku makrofag penghasil FGF pada kelompok K adalah $21,08 \pm 5,56$ sel/10 lapang pandang, kelompok P1 adalah $24,50 \pm 5,13$ sel/10 lapang pandang, dan kelompok P2 adalah $29,80 \pm 2,26$ sel/10 lapang pandang. Nilai rerata dan simpangan baku makrofag penghasil EGF pada kelompok K adalah $22,40 \pm 2,29$ sel/10 lapang pandang, kelompok P1 adalah $24,65 \pm 2,83$ sel/10 lapang pandang, dan kelompok P2 adalah $35,88 \pm 2,97$ sel/10 lapang pandang. Hasil uji t variabel makrofag penghasil FGF menunjukkan nilai p kelompok P2 $< 0,05$ ($p = 0,001$ dibandingkan dengan kelompok K, dan $p = 0,012$ dibandingkan dengan kelompok P1). Hasil uji LSD variabel makrofag penghasil EGF menunjukkan nilai p pada kelompok P2 $<$ dari $0,05$ ($p = 0,000$ dibandingkan dengan kelompok K, dan $p = 0,000$ dibandingkan dengan kelompok P1). Penelitian eksperimental ini menunjukkan bahwa *low level laser therapy* dapat menginduksi proses penyembuhan luka bakar derajat II yang diberikan *silver sulfadiazine* topikal dengan cara meningkatkan sekresi FGF dan EGF oleh makrofag.

SUMMARY

The Effect of Low Level Laser Therapy and Topical Silver Sulfadiazine to Fibroblast Growth Factor (FGF) and Epidermal Growth Factor (EGF) secreting Macrophages on Second-Degree Burn Healing Process

Nindya Shinta

Burn injury often occurs in daily living and potentially causes major morbidity and mortality higher than other injury. Silver sulfadiazine is an antimicrobial preparations that are often given for prevention of infection in a burn lesion which is relatively narrow (5-20%). Some research showed silver components were toxic to host cells, especially fibroblasts and keratinocytes. Both of these cells play a role in wound healing process.

The use of low level laser therapy to stimulate wound healing has been familiar in medical practice today. It is believed that photons generated by laser can stimulate the proliferation and differentiation of mesenchymal cell in wounded tissue so the wound healing can be more quickly achieved. The role of the laser on healing process of burn has been controversial. Some studies showed low level laser therapy does not affect the healing process of burns. But several other studies showed that low level laser therapy can induce the healing process of burn.

The aim of this study was to determine the effect of low level laser therapy on the secretion of Epidermal Growth Factor (EGF) dan Fibroblast Growth Factors (FGF) by macrophages in the healing process of second-degree burn wound healing in BALB/c strain male mice. Second degree burn was created on the backs of every 24 BALB/c strain male mice by heating techniques using an iron plate which was heated in boiling water. 24 mice were divided into three groups randomly. Group I (K), burn lesion was treated with 0.9% NaCl solution irrigation and closed dressing, the second group (P1) burn lesion was treated with topical silver sulfadiazine 1% and closed dressing, and group III (P2) burn lesion was treated with 4 J/cm² laser irradiation in 60 second, topical silver sulfadiazine

1% and closed dressing. The treatment was done once daily within 3 days. A biopsy was performed on the lesion on the fourth day after the burns. We studied the effect of low level laser therapy and topical silver sulfadiazine to EGF-secreting macrophages and FGF-secreting macrophages on healing process of burns by making observations on Hematoxylin Eosin staining and immunohistochemistry techniques, by light microscope examination.

Statistical analysis showed that the FGF-secreting macrophages and EGF-secreting macrophages in the group which given the combination of low level laser therapy and topical silver sulfadiazine significantly higher than the 2 other groups. Mean and standard deviation (SD) values FGF-secreting macrophages in K group was $21,08 \pm 5,56$ cells/10 high power of field (HPF), the P1 group was 24.50 ± 5.13 cells/10 HPF and P2 groups was 29.80 ± 2.26 cells/10 HPF. Mean and SD value of EGF-secreting macrophages in K group was 22.40 ± 2.29 cells/10 HPF, the P1 group was 24.65 ± 2.83 cells/10 HPF and P2 groups was 35.88 ± 2.97 cells/10 HPF. t test result for FGF-secreting macrophages variable showed the p-score of P2 group less than 0,05 ($p = 0.001$ compared with K group, and $p = 0.012$ compared with P1 group). LSD test results for EGF-secreting macrophages variable showed p-score of P2 group less than 0.05 ($p = 0.000$ compared with K group, and $p = 0.000$ compared with P1 group). This experimental research showed that low level laser therapy induced the healing process of the second-degree burns which was given topical silver sulfadiazine by increasing the secretion of FGF and EGF by macrophages.

Abstract

The Effect of Low Level Laser Therapy and Topical Silver Sulfadiazine on Fibroblast Growth Factor (FGF) and Epidermal Growth Factor (EGF) secreting Macrophages on Second-Degree Burn Healing Process

Nindya Shinta

Burn injury often occurs in daily living and potentially causes major morbidity and mortality higher than other injury. Silver sulfadiazine is antimicrobial preparations that are often given for prevention of infection in a burn lesion which is relatively narrow (5-20%). Some research showed silver components toxic to host cells, especially fibroblasts and keratinocytes. Both of these cells play a role in wound healing process. The role of the laser on burn healing process has been controversial. The aim of this study was to demonstrate the increasing of epidermal growth factor (EGF) and fibroblast growth factor (FGF) secretion of the macrophages due to the effect of the laser on second-degree burn healing process in BALB/c strain male mice. Second-degree burn lesion was created with a standard burning procedure by applying a heating plate on the backside of each of 24 BALB/c mice. 24 mice were divided into three groups randomly. Group I (K), burn lesion was treated with 0.9% NaCl solution and closed dressing, the second group (P1) burn lesion was treated with topical silver sulfadiazine 1% and closed dressing, and group III (P2) burn lesion was treated with 4 J/cm² laser irradiation, topical silver sulfadiazine 1% and closed dressing. A biopsy was performed on the lesion on the fourth day after the burns. We studied the effect of low level laser therapy and topical silver sulfadiazine to EGF-secreting macrophages and FGF-secreting macrophages on burn healing process by making observations on Hematoxylin Eosin staining and immunohistochemistry techniques. Statistical analysis showed that the FGF-secreting macrophages and EGF-secreting macrophages in the group which given the combination of low level laser therapy and topical silver sulfadiazine significantly higher than the 2 other groups. It was concluded that low level laser therapy induced the healing process of the second-degree burns which was given topical silver sulfadiazine by increasing the secretion of FGF and EGF by macrophages.

Keywords : healing process, second-degree burn, low level laser therapy & silver sulfadiazine.

DAFTAR ISI

Sampul Dalam	i
Prasyarat Gelar	ii
Persetujuan Tesis	iii
Penetapan Panitia Penguji Tesis	iv
Ucapan Terima Kasih	v
Ringkasan	viii
Summary	x
Abstract	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
DAFTAR SINGKATAN	xx
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Luka Bakar	6
2.1.1 Batasan luka bakar	6
2.1.2 Penyebab luka bakar	6
2.1.3 Patofisiologi luka bakar	7
2.1.4 Derajat luka bakar	8
2.1.5 Fase luka bakar	9
2.1.6 Luas luka bakar	10
2.1.7 Kategori luka bakar	11
2.1.8 Penatalaksanaan penderita luka bakar	12
2.2 Anatomi dan Fisiologi Kulit	14



2.2.1	Fungsi kulit	14
2.2.2	Anatomi kulit	15
2.2.2.1	Epidermis	15
2.2.2.2	Dermis	16
2.2.3	Proses pergantian sel epidermis	17
2.3	Proses Penyembuhan luka	18
2.3.1	Tahap penyembuhan luka	19
2.3.1.1	Fase hemostasis	20
2.3.1.2	Fase inflamasi	20
2.3.1.3	Fase proliferasi	21
2.3.1.4	Fase maturasi	23
2.3.2	Proses penyembuhan luka pada kulit	24
2.4	<i>Low Level Laser</i>	26
2.4.1	Sejarah laser	27
2.4.2	Batasan <i>low level laser therapy</i>	27
2.4.3	Fotobiologi	28
2.4.4	Efek biologi sinar laser	28
2.4.5	Interaksi energi laser dan jaringan	29
2.4.6	Efek klinis <i>low level laser</i>	32
2.4.7	<i>Low level laser</i> dan proses penyembuhan luka	33
2.5	<i>Silver Sulfadiazine</i>	38
2.5.1	Sejarah <i>silver sulfadiazine</i>	38
2.5.2	<i>Silver sulfadiazine</i> untuk pengobatan infeksi	38
2.5.3	<i>Silver sulfadiazine</i> dan proses penyembuhan luka	39
2.6	EGF (<i>Epidermal Growth Factor</i>)	42
2.7	FGFs (<i>Fibroblast Growth Factors</i>)	43
2.8	Makrofag	45
2.8.1	Fungsi makrofag	46
2.8.2	Diferensiasi makrofag	46
2.8.3	Aktivasi makrofag	46
2.8.4	Makrofag dan proses penyembuhan luka	48
2.9	Mencit	48

2.9.1	Sifat biologi mencit	49
2.9.2	Pemeliharaan mencit	49
2.9.3	Teknik perlakuan pada mencit	50
2.9.4	Euthanasia pada mencit	50
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1	Kerangka Konseptual	52
3.2	Hipotesis Penelitian	55
BAB 4	MATERI DAN METODE PENELITIAN	
4.1	Desain dan Rancangan Penelitian	56
4.2	Tempat dan Waktu Penelitian	56
4.3	Unit Eksperimen	57
4.4	Besar Replikasi	57
4.5	Variabel Penelitian	58
4.6	Definisi Operasional	58
4.7	Bahan dan Alat Penelitian	60
4.8	Prosedur Penelitian	61
4.9	Analisis Data	64
BAB 5	HASIL PENELITIAN	
5.1	Data Penelitian	66
5.2	Analisis Data dan Hasil Penelitian	69
5.2.1	Hasil uji normalitas	71
5.2.2	Hasil uji homogenitas	72
5.2.3	Hasil uji beda variabel makrofag penghasil FGF	73
5.2.4	Hasil uji beda variabel makrofag penghasil EGF	73
BAB 6	PEMBAHASAN	
6.1	Metode Penelitian	75
6.1.1	Unit eksperimen dan besar replikasi	76
6.1.2	Variabel penelitian	77
6.1.3	Pembuatan luka bakar derajat II	77
6.1.4	Penyinaran <i>low level laser</i>	77
6.1.5	<i>Silver sulfadiazine</i> topikal	78
6.1.6	Irigasi larutan NaCl 0,9%	78

6.1.7	Pembalutan kasa steril	78
6.1.8	Pengamatan makrofag penghasil EGF / FGF	79
6.1.9	Analisis data statistik	79
6.2	Pembahasan Hasil Penelitian	80
6.2.1	Uji normalitas	80
6.2.2	Uji homogenitas	80
6.2.3	Hasil uji Beda	81
BAB 7	PENUTUP	
7.1	Kesimpulan	87
7.2	Saran	87
	Kepustakaan	88

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Dosis Laser dan Efek Klinis yang Didapat	35
Tabel 5.2 Data Deskriptif Makrofag Penghasil FGF	70
Tabel 5.3 Data Deskriptif Makrofag Penghasil EGF	71
Tabel 5.4 Tingkat Signifikansi Uji Normalitas	71
Tabel 5.5 Tingkat Signifikansi Uji Homogenitas	72
Tabel 5.6 Hasil <i>Independent Two Sample t-test</i>	73
Tabel 5.7 Hasil Uji LSD	74

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Derajat kedalaman luka bakar	9
Gambar 2.2	Perhitungan luas luka bakar	11
Gambar 2.3	Gambar skematis lapisan kulit	17
Gambar 2.4	Gambaran mikroskopis kulit	17
Gambar 2.5	Mekanisme aktivasi makrofag oleh <i>low level laser</i>	37
Gambar 3.1	Kerangka konsep	52
Gambar 4.1	Pembagian kelompok perlakuan	56
Gambar 4.2	Prosedur kerja penelitian	61
Gambar 5.1	Gambar histopatologi kulit dengan luka bakar derajat II	67
Gambar 5.2	Gambar histopatologi kulit dengan luka bakar derajat II	68
Gambar 5.3	Pengamatan makrofag penghasil EGF	69
Gambar 5.4	Pengamatan makrofag penghasil FGF	69
Gambar 5.5	Diagram batang distribusi rerata makrofag penghasil FGF	70
Gambar 5.6	Diagram batang distribusi rerata makrofag penghasil EGF	71

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Spesifikasi Antibodi EGF	94
Lampiran 2	Spesifikasi Antibodi FGF	95
Lampiran 3	Spesifikasi Laser Semikonduktor AlGaInP	96
Lampiran 4	Tekhnik Pembuatan Preparat	98
Lampiran 5	Tekhnik Pewarnaan Hematoksin Eosin	100
Lampiran 6	Tekhnik Pewarnaan Imunohistokimia	101
Lampiran 7	Komposisi Pakan Pelet C 511	103
Lampiran 8	Spesifikasi Salep Burnazin	104
Lampiran 9	Kaliberasi Laser	105
Lampiran 10	Sertifikat Uji Laik Etik Penelitian	108
Lampiran 11	Data Jumlah Makrofag Penghasil FGF	109
Lampiran 12	Data Jumlah Makrofag Penghasil EGF	110
Lampiran 13	Hasil Uji Kolmogorov-Smirnov Satu Sampel	111
Lampiran 14	Statistik Deskriptif Rerata dari Standar Deviasi dari Jumlah Makrofag Penghasil EGF dan FGF	113
Lampiran 15	Hasil Uji Homogenitas	114
Lampiran 16	Hasil Uji t Variabel Makrofag Penghasil FGF	115
Lampiran 17	Hasil Uji ANOVA Variabel Makrofag Penghasil EGF	117
Lampiran 18	Hasil Uji LSD Variabel Makrofag Penghasil EGF	118
Lampiran 19	Rincian Kegiatan Penelitian	119
Lampiran 20	Keterangan Lulus Ujian Tesis	120
Lampiran 21	Lembar Pengesahan Revisi Tesis	121

DAFTAR SINGKATAN

ADP	:	<i>Adenosine Di Phosphate</i>
aFGF	:	<i>acidic Fibroblast Growth Factor</i>
AR	:	<i>Amphiregulin</i>
ATP	:	<i>Adenosine Tri Phosphate</i>
bFGF	:	<i>basic Fibroblast Growth Factor</i>
BSA	:	<i>Biotin Streptavidin Amplified</i>
BTC	:	<i>Betacellulin</i>
CO	:	<i>Carbon Mono-oxyde</i>
D1	:	Domain ekstraseluler tipe immunoglobulin 1
D2	:	Domain ekstraseluler tipe immunoglobulin 2
D3	:	Domain ekstraseluler tipe immunoglobulin 3
Da	:	Dalton
DAB	:	<i>2,3 Diaminobenzene</i>
DNA	:	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
ECM	:	<i>Extra Cellular Matrix</i>
EGF	:	<i>Epidermal Growth Factor</i>
EGFR	:	<i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
EPR	:	<i>Epiregulin</i>
FGF	:	<i>Fibroblast Growth Factor</i>
FGFRs	:	<i>Fibroblast Growth Factor Receptor</i>
HB-EGF	:	<i>Heparin-binding EGF-like growth factor</i>
HCl	:	<i>Hidrogen Chlorida</i>
HPF	:	<i>High Power of Field</i>
HRP	:	<i>Horse Peroxidase</i>
IFN	:	<i>Interferon</i>
IGF	:	<i>Insulin-like Growth Factor</i>
IHC	:	<i>Immunohistochemistry</i>
IL	:	<i>Interleukin</i>
KGF	:	<i>Keratinocyte Growth Factor</i>

KGFR	:	<i>Keratinocyte Growth Factor Receptor</i>
LPB	:	Lapang Pandang Besar
LLLT	:	<i>Low Level Laser Therapy</i>
MHC	:	<i>Mayor Histocompatibility Complex</i>
MMPs	:	<i>Matriks Metallo-Proteinases</i>
MRSA	:	<i>Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus</i>
NAD	:	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide</i>
NADH	:	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Dehidrogenase</i>
NF	:	<i>Nuclear Factor</i>
NK	:	<i>Natural Killer</i>
NRG-1	:	<i>Neuregulin-1</i>
NRG-2	:	<i>Neuregulin-2</i>
NRG-3	:	<i>Neuregulin-3</i>
NRG-4	:	<i>Neuregulin-4</i>
PBS	:	<i>Phosphate Buffer Saline</i>
PDGF	:	<i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
TGF- α	:	<i>Transforming Growth Factor α</i>
TGF β	:	<i>Transforming Growth Factor β</i>
TH	:	<i>T Helper</i>
RNA	:	<i>Riboxy-Ribonucleic Acid</i>
SD	:	<i>Standard Deviation</i>
SM	:	Sebelum Masehi
SSD	:	<i>Silver Sulfadiazine</i>
VEGF	:	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VRE	:	<i>Vancomisin-Resistant Enterococci</i>
VEGF	:	<i>Vascular Endhotelial Growth Factor</i>

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka bakar merupakan cedera yang sering terjadi dan berpotensi besar menyebabkan morbiditas, mortalitas dan derajat cacat yang lebih tinggi daripada cedera oleh sebab lain. Luka bakar merupakan penyebab ketiga kematian akibat kecelakaan setelah kecelakaan kendaraan bermotor dan senjata api. Lebih dari 2 juta orang diperkirakan menderita karena luka bakar di Amerika setiap tahun (Barillo & MacManus, 1999). Kurang lebih 2,5 juta orang mengalami luka bakar di Indonesia setiap tahun. 200 ribu pasien dari kelompok tersebut memerlukan penanganan rawat jalan dan 100 ribu pasien memerlukan perawatan di rumah sakit. Sekitar 12 ribu orang meninggal setiap tahun akibat luka bakar dan trauma inhalasi. Satu juta orang hilang karena luka bakar setiap tahun. Lebih separuh dari kasus luka bakar yang dirawat di rumah sakit seharusnya dapat dicegah (Mukti, 2008).

Insiden puncak luka bakar pada orang dewasa muda pada umur 20-29 tahun, diikuti oleh anak usia kurang dari 9 tahun. Sekitar 80% luka bakar terjadi di rumah (Georgiade & Pederson, 1995). Kegiatan memasak, memanaskan atau menggunakan alat listrik merupakan pekerjaan yang sering menyebabkan kejadian ini. Kecelakaan industri juga dapat menyebabkan kejadian luka bakar. *The National Institute of Burn Medicine* yang mengumpulkan data statistik dari berbagai pusat luka bakar termasuk di Indonesia mencatat bahwa sebagian besar pasien (75%) merupakan korban dari perbuatan mereka sendiri (Silverstein, 2000).

Prinsip penanganan luka bakar adalah penyembuhan lesi, pencegahan infeksi, penanganan nyeri, pencegahan trauma mekanik pada kulit, dan pencegahan terjadinya sikatriks (Munadjat, 2000). Antimikroba yang sering digunakan untuk profilaksis infeksi pada luka bakar yang relatif sempit (5-20%) adalah *silver sulfadiazine* (Ag-SD) yang diberikan secara topikal (Georgiade & Pederson, 1995). *Silver sulfadiazine* merupakan antimikroba poten. Komponen *silver* berikatan dengan *deoxyribo nucleic acid* (DNA) kuman sehingga menghambat replikasi kuman. Beberapa penelitian *in vitro* menyajikan fakta bahwa ion *silver* berikatan dengan kelompok sulfidril bebas pada membran bakteri sehingga menyebabkan inaktivasi dari enzim *fosfomanose isomerase* pada bakteri (Atiyeh *et al*, 2006). Ion *silver* selain bersifat toksik bagi bakteri, juga bersifat toksik terhadap sel host normal. Beberapa penelitian laboratorium menemukan bahwa fibroblas dan keratinosit yang berperan dalam penyembuhan luka, rentan mengalami kerusakan letal ketika terpapar dengan *silver* pada konsentrasi yang sama untuk membunuh bakteri (Atiyeh *et al*, 2007).

Low level laser therapy merupakan modalitas terapi yang populer di beberapa klinik belakangan ini dengan tujuan untuk mempercepat penyembuhan luka. Terapi ini termasuk dalam golongan fototerapi. Fototerapi merupakan salah satu bentuk terapi alternatif (termasuk terapi biologi, oksigen hiperbarik, terapi tekanan negatif, dan terapi rekonstruksi) yang dapat menginduksi proses penyembuhan luka. Energi foton yang dihasilkan oleh *low level laser* diketahui mempunyai efek biostimulasi pada jaringan. Energi foton merangsang proliferasi dan diferensiasi sel mesenkim sehingga penyembuhan luka dan pembentukan jaringan baru lebih cepat tercapai (Sihombing, 2007). Foton juga dapat

merangsang pembentukan *adenosine triphosphate* (ATP), peningkatan potensial membran, sintesis kolagen, motilitas dan proliferasi dari keratinosit, sekresi faktor pertumbuhan, dan transformasi fibroblas menjadi miofibroblas (Bayat *et al*, 2005; Hopkins *et al*, 2004). Ribeiro & Albuquerque 2009 menyatakan bahwa *low level laser* mempunyai efek biomodulator terhadap miofibroblas, limfosit T dan limfosit B pada proses penyembuhan luka.

Low level laser therapy mempunyai beberapa keunggulan seperti biaya rendah, sedikit risiko, sedikit kontraindikasi, dan tidak ada efek samping yang dilaporkan. Terapi ini dapat menjadi efektif dan efisien jika dikombinasikan dengan *silver sulfadiazine* topikal karena dapat meminimalisir efek toksik silver terhadap fibroblas dan keratinosit (Whinfield & Aitkenhead, 2009).

Teori mengenai efek iradiasi dengan *low level laser* dalam proses penyembuhan luka terutama pada luka bakar yang diberi *silver sulfadiazine* topikal masih belum jelas. Penelitian ini difokuskan pada mempelajari pengaruh *low level laser* terhadap sekresi *Epidermal Growth Factor* (EGF) dan *Fibroblast Growth Factor* (FGF) oleh makrofag karena kedua faktor pertumbuhan tersebut berfungsi merangsang fibroblas dan keratinosit, sel yang rentan mengalami kerusakan jika terpapar dengan *silver sulfadiazine*. Makrofag yang teraktivasi oleh foton dari *low level laser*, akan menghasilkan EGF dan FGF yang berfungsi merangsang motilitas dan proliferasi keratinosit dan fibroblas. Iradiasi *low level laser* diharapkan dapat memperbaiki efek samping dari pemberian *silver sulfadiazine* topikal pada luka bakar terhadap proses penyembuhan luka.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah jumlah makrofag penghasil FGF pada penyembuhan luka bakar derajat II yang diberikan kombinasi *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal lebih banyak daripada jumlah makrofag penghasil FGF pada penyembuhan luka bakar derajat II yang diberikan *silver sulfadiazine* topikal saja?
2. Apakah jumlah makrofag penghasil EGF pada penyembuhan luka bakar derajat II yang diberikan kombinasi *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal lebih banyak daripada jumlah makrofag penghasil EGF pada penyembuhan luka bakar derajat II yang diberikan *silver sulfadiazine* topikal saja?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Mempelajari pengaruh *low level laser therapy* terhadap makrofag penghasil EGF dan makrofag penghasil FGF pada proses penyembuhan luka bakar derajat II yang diberikan *silver sulfadiazine* topikal.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Membuktikan bahwa jumlah makrofag penghasil FGF pada penyembuhan luka bakar derajat II yang diberikan kombinasi *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal lebih banyak daripada jumlah makrofag penghasil FGF pada penyembuhan luka bakar derajat II yang diberikan *silver sulfadiazine* topikal saja.

2. Membuktikan bahwa jumlah makrofag penghasil EGF pada penyembuhan luka bakar derajat II yang diberikan kombinasi *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal lebih banyak daripada jumlah makrofag penghasil EGF pada penyembuhan luka bakar derajat II yang diberikan *silver sulfadiazine* topikal saja.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Memberikan kontribusi pada pengembangan Iptek Kedokteran mengenai pengaruh *low level laser therapy* terhadap proses penyembuhan luka bakar yang diberikan *silver sulfadiazine* topikal.

1.4.2 Manfaat praktis

Sebagai dasar pengembangan terapi untuk lesi luka bakar yang dapat dilakukan di Pusat Kesehatan Masyarakat (Puskesmas), Rumah Sakit, Klinik, maupun Pusat Luka Bakar.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Luka Bakar

Luka bakar merupakan jenis luka, kerusakan jaringan atau kehilangan jaringan yang diakibatkan sumber panas atau suhu dingin yang ekstrim, sumber listrik, bahan kimiawi, cahaya, radiasi dan friksi. Jenis luka yang terjadi memiliki bentuk yang bervariasi dan memerlukan penanganan berbeda tergantung jenis jaringan yang terkena, tingkat keparahan, dan komplikasi yang terjadi akibat luka tersebut. Luka bakar dapat merusak jaringan otot, tulang, pembuluh darah dan jaringan epidermal. Pasien luka bakar dapat mengalami komplikasi fatal termasuk diantaranya syok, infeksi, gangguan elektrolit dan distres nafas. Luka bakar dapat juga menyebabkan distres emosional dan psikologis yang berat dikarenakan cacat akibat luka bakar dan adanya sikatriks.

2.1.1 Batasan

Batasan luka bakar adalah kerusakan atau kehilangan jaringan yang diakibatkan sumber panas ataupun suhu dingin yang tinggi, sumber listrik, bahan kimiawi, cahaya, radiasi dan friksi (Holmes & Hembach, 2005).

2.1.2 Penyebab Luka Bakar

Berdasarkan penyebabnya luka bakar dibagi menjadi yaitu *scald* (luka bakar akibat cairan panas atau uap panas), *contact burn* (luka bakar akibat kontak dengan permukaan panas), *thermal burn* (luka bakar akibat api), *radiation burns* (luka bakar akibat radiasi), *chemical burn* (luka bakar akibat bahan kimia), *frost bite* (akibat suhu yang ekstrim dingin) dan *electrical burn* (luka bakar akibat listrik).

2.1.3 Patofisiologi Luka Bakar

Efek pertama luka bakar adalah syok karena pasien kaget dan kesakitan. Pembuluh darah dan eritrosit mengalami kerusakan sehingga dapat mengakibatkan anemia. Kerusakan vaskular menyebabkan permeabilitas membran meningkat yang diikuti peristiwa eksudasi. Eksudasi plasma mengakibatkan terbentuknya edema dan bula. Hal ini menyebabkan berkurangnya volume cairan intra vaskular. Tubuh kehilangan cairan antara ½% - 1% dari volume darah untuk setiap 1% luas luka bakar. Kerusakan kulit akibat luka bakar menyebabkan kehilangan cairan tambahan karena penguapan yang berlebih (*insensible water loss* meningkat). Pasien akan mengalami syok hipovolemik dengan gejala yaitu gelisah, pucat dingin berkeringat, nadi kecil, dan cepat, tekanan darah menurun dan produksi urine menurun (kegagalan fungsi ginjal) bila luka bakar lebih dari 2% (Pusponegoro *et al*, 2005).

Luka bakar pada daerah wajah dapat mengakibatkan kerusakan mukosa jalan nafas karena gas, asap atau uap panas yang terhirup, keadaan ini disebut trauma inhalasi. Gejala yang timbul adalah sesak nafas, takipneu, stridor, suara serak dan berdahak berwarna gelap karena jelaga. Pasien luka bakar dapat juga mengalami keracunan gas *carbon monoxide* (CO) dimana CO akan mengikat hemoglobin membentuk karboksi-hemoglobin yang tidak mampu mengangkut oksigen. Tanda keracunan CO yang ringan adalah lemas, binggung, pusing, mual dan muntah. Pasien akan mengalami koma pada keracunan CO berat. Pasien dapat meninggal jika lebih 60% hemoglobin terikat CO (Pusponegoro *et al*, 2005).

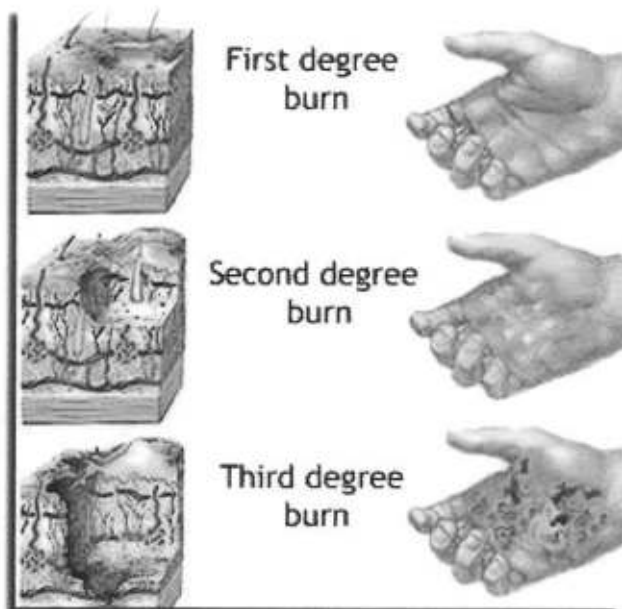
Pasien luka bakar berat dapat mengalami ileus paralitik. Stres dan beban fisiologis yang terjadi pada luka bakar berat dapat menyebabkan tukak di mukosa lambung atau duodenum dengan gejala yang sama gejala tukak peptik. Kelainan ini

dikenal dengan *Curling ulcers*. Komplikasi yang dikhawatirkan pada tukak Curling ini adalah pendarahan yang timbul sebagai hematesis melena (Pusponegoro *et al*, 2005).

2.1.4 Derajat Luka Bakar

Derajat kedalaman kerusakan jaringan akibat luka bakar tergantung pada derajat panas sumber, penyebab dan lamanya kontak dengan tubuh pasien. Luka bakar dibagi menjadi 3 derajat, yaitu sebagai berikut: 1). Luka bakar derajat I. Kerusakan jaringan terjadi terbatas pada lapisan epidermis (superfisial), kulit hiperemia, tidak terdapat bula, dan terasa nyeri karena ujung saraf sensorik teriritasi. Penyembuhan terjadi secara spontan tanpa pengobatan khusus. 2). Luka bakar derajat II. Kerusakan jaringan meliputi epidermis dan sebagian dermis, berupa reaksi inflamasi disertai proses eksudasi. Terdapat bula dan terasa nyeri karena ujung saraf sensorik teriritasi. Luka bakar derajat II dibedakan atas 2 (dua) bagian, yaitu : a). Derajat II dangkal/superfisial (IIA). Kerusakan jaringan mengenai bagian epidermis dan lapisan atas dari *corium*/dermis. Organ kulit seperti folikel rambut, kelenjar sebacea masih banyak. Penyembuhan terjadi secara spontan dalam waktu 10-14 hari tanpa terbentuk sikatrik. b). Derajat II dalam/*deep* (IIB). Kerusakan mengenai hampir seluruh bagian dermis dan sisa jaringan epitel tinggal sedikit. Organ kulit seperti folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar sebacea tinggal sedikit. Penyembuhan terjadi lebih lama dan disertai pembentukan jaringan parut hipertrofi. Penyembuhan umumnya terjadi dalam waktu lebih dari satu bulan. 3). Luka bakar derajat III. Kerusakan jaringan meliputi seluruh tebal kulit dan lapisan yang lebih dalam sampai mencapai jaringan subkutan, otot dan tulang. Organ kulit mengalami kerusakan, tidak ada lagi sisa elemen epitel. Bula tidak ditemukan dan kulit yang terbakar

berwarna abu-abu sampai hitam kering. Koagulasi protein pada epidermis dan dermis dikenal sebagai eskar. Rasa nyeri dan sensasi tidak dirasakan karena ujung sensorik rusak. Penyembuhan terjadi lama karena tidak terjadi epitelisasi spontan (Pusponegoro *et al*, 2005).



Gambar 2.1 Derajat kedalaman luka bakar.

Derajat 1 : mengenai epidermis. Derajat 2 : mengenai epidermis dan sebagian dermis, didapatkan bula. Derajat 3 : mengenai epidermis, dermis, otot, dan bahkan tulang. (*available at* : www.colonialfitguide.com)

2.1.5 Fase Luka Bakar

Luka bakar dalam perjalanan penyakitnya dibedakan dalam 3 fase untuk memudahkan penanganannya, yaitu fase akut, fase subakut dan fase lanjut. Pembagian fase tersebut tidak mempunyai garis pembatas yang tegas diantara ketiga fase ini, sehingga kerangka berpikir dalam penanganan pasien tidak dibatasi oleh kotak fase dan tetap harus terintegrasi. Langkah penatalaksanaan fase sebelumnya akan berimplikasi klinis pada fase selanjutnya.

kejadian sampai pasien mendapat perawatan di unit gawat darurat/unit luka bakar. Pasien luka bakar mengalami ancaman dan gangguan *airway* (jalan napas), *breathing* (mekanisme bernapas) dan *circulation* (sirkulasi) pada fase ini. Gangguan *airway* terjadi segera atau beberapa saat setelah terjadi trauma. Trauma inhalasi dapat terjadi dalam 48-72 jam pasca trauma. Trauma inhalasi merupakan penyebab kematian utama pasien pada fase akut. Gangguan keseimbangan sirkulasi cairan dan elektrolit akibat cedera termal/panas dapat terjadi pada fase ini. Syok yang bersifat hipodinamik dapat berlanjut dengan keadaan hiperdinamik yang masih berhubungan akibat problem instabilitas sirkulasi (Kartohadmojo, 2007).

Fase yang kedua yaitu fase sub akut dimana berlangsung setelah fase syok berakhir atau dapat teratasi. Luka yang terjadi dapat menyebabkan beberapa masalah yaitu adanya resiko infeksi infeksi, terjadi proses inflamasi, problem penyembuhan luka, dan keadaan hipermetabolisme.

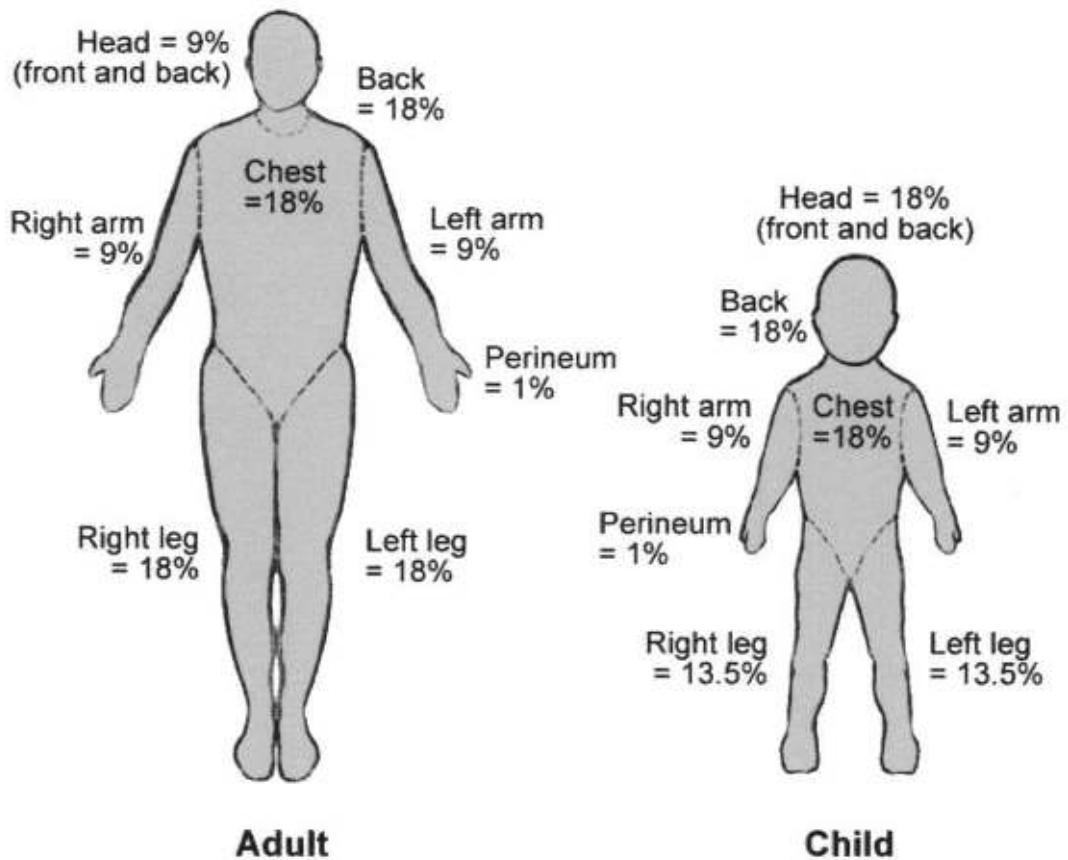
Fase yang terakhir yaitu fase lanjut dimana pada fase ini pasien sudah dinyatakan sembuh tetapi tetap dipantau melalui rawat jalan. Problem yang muncul pada fase ini adalah penyulit berupa jaringan parut hipertrofik, keloid, gangguan pigmentasi, deformitas dan timbulnya kontraktur (Kartohadmojo, 2007).

2.1.6 Luas Luka Bakar

Perhitungan luas luka bakar pada pasien dilakukan untuk penentuan berat ringannya dan sebagai dasar pemberian cairan. Pasien dewasa menggunakan hukum 9 (*Rule Of Nine(s)*), sedangkan pada anak perhitungan menggunakan tabel *Lund & Bowder*. Hukum 9 atau *Rules of Nines* adalah sebagai berikut : kepala 9%, pinggang 9%, lengan 9%, paha 9%, dada 9%, betis 9%, perut 9%, perineum & genital 9%, punggung 9%, dan telapak tangan 1%.

punggung 9%, dan telapak tangan 1%.

Perhitungan luas luka bakar pada pasien anak menggunakan tabel *Lund & Browder*, yaitu : kepala leher 15%, depan belakang 20%, ekstremitas atas kanan kiri 10%, ekstremitas bawah kanan kiri 15% (Pusponegoro *et al*, 2005).



Gambar 2.2 Perhitungan luas luka bakar
(available at : www.yudhine.files.wordpress.com)

2.1.7 Kategori Luka Bakar

Pasien luka bakar dikategorikan sebagai berikut: 1) Luka bakar berat/kritis. Kriterianya yaitu derajat II-III > 40%; derajat III pada muka, tangan, kaki; trauma jalan nafas tanpa memikirkan luas luka bakar; trauma listrik; atau disertai trauma lainnya. 2) Luka bakar sedang. Kriterianya yaitu derajat II 15-40%; derajat III < 10%,

II < 15%; derajat III < 2%.

Kategori tersebut untuk kepentingan prognosis berhubungan dengan angka morbiditas dan mortalitas pada pasien luka bakar. Prognosis dan berat ringannya luka bakar ditentukan sebagai berikut : 1) Kedalaman luka bakar. 2) Luas luka bakar. 3) Daerah yang terkena luka bakar. 4) Usia dan keadaan umum pasien (Pruitt *et al*, 1997).

2.1.8 Penatalaksanaan Pasien Luka Bakar

Pasien luka bakar ditangani secara teliti dan sistematis. Evaluasi pertama (*triage*) dilakukan pemeriksaan terhadap keadaan jalan nafas, ventilasi, dan sirkulasi pasien. *Airway*, ventilasi dan perfusi sistemik dipertahankan dalam keadaan stabil. Endotrakeal dan infus dipasang untuk mempertahankan jalan nafas dan volume sirkulasi. Pemeriksaan fisik pasien dilakukan secara keseluruhan. Anamnesis langsung dapat dilakukan jika pasien sadar, tetapi jika pasien tidak sadar atau tidak dapat berkomunikasi, anamnesis dilakukan kepada orang terdekat atau pengantar. Anamnesis dilakukan untuk mengetahui mekanisme trauma, waktu kejadian terjadi, serta penyakit yang pernah di alami sebelumnya. Luka bakar diperiksa apakah termasuk luka bakar berat, sedang, atau ringan dengan menentukan luas dan derajat kedalaman luka bakar (Kartohatmojo, 2007).

Penanganan luka bakar di unit gawat darurat adalah membebaskan pasien dari pakaian yang terbakar, melakukan pemeriksaan yang teliti dan menyeluruh, membebaskan jalan napas, memasang kateter intravena 2 jalur dengan kateter besar, kateter Foley, pipa nasogastrik, memberikan morfin intravena dan tetanus toksoid . Cairan Ringer Laktat diberikan dengan jumlah 30-50 cc/jam untuk dewasa atau 20-30 cc/jam untuk anak-anak di atas 2 tahun atau 1 cc/kg/jam untuk anak dibawah 2

tahun. Kateter Foley dipasang untuk monitor produksi urin dan dilakukan pencatatan jumlah urin/jam. Pipa nasogastrik dipasang untuk menyuplai nutrisi dan dekompresi gaster dengan penghisapan intermiten. Pemberian morfin intravena untuk menghilangkan rasa nyeri hebat. Anti tetanus toksoid diberikan bila diperlukan. *Debridemen* dan disinfeksi luka dilakukan di kamar operasi dengan anestesi umum menggunakan larutan savlon 1:30. Luka kemudian diolesi dengan salep *silver sulfadiazine* (SSD) sampai tebal dan ditutup dengan kasa steril tebal. Kasa di buka pada hari ke-5 dan pasien dimandikan dengan air dicampur savlon 1:30 (Pruitt *et al*, 1997).

Eskarotomi adalah suatu prosedur atau membuang jaringan yang mati (*eschar*) dengan teknik eksisi tangensial berupa eksisi lapis demi lapis jaringan nekrotik sampai di dapatkan permukaan yang berdarah. Fasiotomi dilakukan pada luka bakar yang mengenai kaki dan tangan melingkar, agar bagian distal tidak nekrose karena proses *stewing*. Penyembuhan dan penutupan luka dapat terjadi otomatis tanpa bantuan operasi jika kondisi luka relatif bersih dan tidak infeksi. Proses epitelisasi terjadi secara persekudam pada luka bakar superfisial. Tindakan penutupan luka luas untuk luka bakar dalam yang sering dilakukan *split thickness skin grafting*. Tandur alih kulit dilakukan bila luka tersebut tidak sembuh dalam waktu 2 minggu dengan diameter > 3 cm (Pruitt *et al*, 1997).

Penatalaksanaan syok pada pasien luka bakar menggunakan metode resusitasi cairan konvensional dalam waktu singkat. Tujuannya adalah memperbaiki prognosis, memperkecil derajat kerusakan jaringan, mempersingkat hipotermi, dan memperkecil kemungkinan terjadinya koagulasi yang berlebihan. Beberapa formula dikenal sebagai penanganan sirkulasi pada luka bakar yaitu formula Baxter, formula Evans,



formula Brooke, formula Parkland, formula Modifikasi, dan formula Monafo. Formula yang umum digunakan adalah formula Baxter. Formula Baxter adalah sebagai berikut, pada hari pertama pasien dewasa diberikan Ringer Laktat sebanyak $4 \text{ cc} \times \text{berat badan} \times \% \text{ luas luka bakar}$ per 24 jam. Pasien anak diberikan Ringer Laktat dan Dextran dengan perbandingan 17:3 sebanyak $2 \text{ cc} \times \text{berat badan} \times \% \text{ luas luka}$ ditambah kebutuhan faali. Kebutuhan faali untuk anak berumur < 1 tahun adalah sebanyak $\text{berat badan} \times 100 \text{ cc}$. Anak berumur antara 1–3 tahun, kebutuhan faali sebanyak $\text{berat badan} \times 75 \text{ cc}$ dan anak berumur antara 3–5 tahun, kebutuhan faali sebanyak $\text{berat badan} \times 50 \text{ cc}$. Total cairan yang dibutuhkan selama 24 jam diberikan melalui 2 tahap, yaitu $\frac{1}{2}$ jumlah cairan diberikan dalam 8 jam pertama kemudian $\frac{1}{2}$ jumlah cairan lagi diberikan 16 jam berikutnya. Pada hari kedua kebutuhan cairan pada pasien dewasa adalah sebanyak $\frac{1}{2}$ dari volume kebutuhan cairan pada hari ke-1, dan pada pasien anak diberi sesuai kebutuhan faali (Pruitt *et al*, 1997).

2.2 Anatomi dan Fisiologi Kulit

Kulit merupakan organ terbesar dari tubuh. Luas permukaan kulit dewasa rata-rata adalah $1,8 \text{ m}^2$, dan merupakan 16% dari total berat badan. Ketebalan kulit bervariasi di seluruh tubuh tergantung pada banyaknya fungsi daerah itu. Daerah yang sering kita gunakan seperti kaki dan tangan, mempunyai kulit yang tebal daripada kulit di tempat lain. Kulit dibagi menjadi dua lapisan, yaitu dermis dan epidermis (Revis & Seagle, 2006).

2.2.1 Fungsi Kulit

Kulit memiliki banyak fungsi, yaitu 1). Termoregulasi : kulit menjaga suhu

tubuh. Vasodilatasi terjadi jika suhu tubuh meningkat sehingga panas lebih banyak keluar. Vasokonstriksi terjadi jika suhu tubuh menurun sehingga lebih sedikit panas yang keluar dari tubuh. 2). Metabolisme : kelenjar keringat di kulit mengeluarkan air, garam dan protein yang akan menguap ketika beraktivitas atau berolahraga. Air keringat begitu sampai di permukaan kulit membuat kulit akan tetap dingin. 3). Sensasi : ujung saraf dan reseptor yang merasakan perubahan di kulit banyak terdapat di kulit. Hal ini memungkinkan untuk merasakan tekstur benda, sakit, panas, dingin dan tekanan. 4). Perlindungan : kulit berfungsi sebagai penghalang dan pelindung tubuh dari cedera dan infeksi, termasuk terhadap cahaya matahari dan radiasi. 5). Vitamin D : kulit memproduksi vitamin D3 ketika terkena sinar matahari (Revis & Seagle, 2006).

2.2.2 Anatomi Kulit

Kulit terdiri dari 2 lapisan yaitu epidermis dan dermis.

2.2.2.1 Epidermis

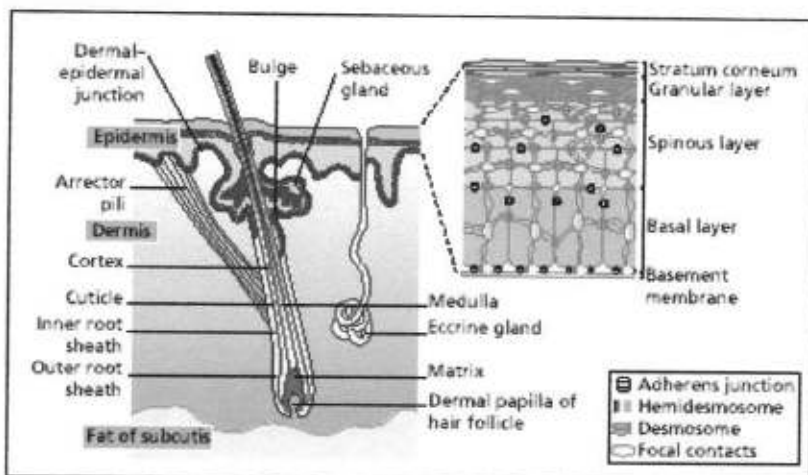
Epidermis adalah lapisan paling luar kulit. Lapisan ini merupakan lapisan bertatah yang terdiri dari banyak sel, termasuk keratinosit dan melanosit. Keratinosit adalah sel yang membuat keratin dan lemak khusus sehingga kulit bersifat tahan air. Melanosit memproduksi melanin, yang merupakan pigmen yang memberi warna kulit. Lapisan ini mengalami pergantian setiap 15-30 hari.

Epidermis dibagi menjadi 5 lapisan sebagai berikut : 1). Stratum korneum : lapisan terluar epidermis. Banyak sel yang terdapat pada lapisan ini yang berhubungan erat sehingga membuat kulit menjadi keras dan tahan air. Lapisan ini penting dalam pencegahan invasi dari benda asing. 2). Stratum lusidum : lapisan ini berisi sel pipih. Ini adalah lapisan keras dan ditemukan di kulit tebal, termasuk

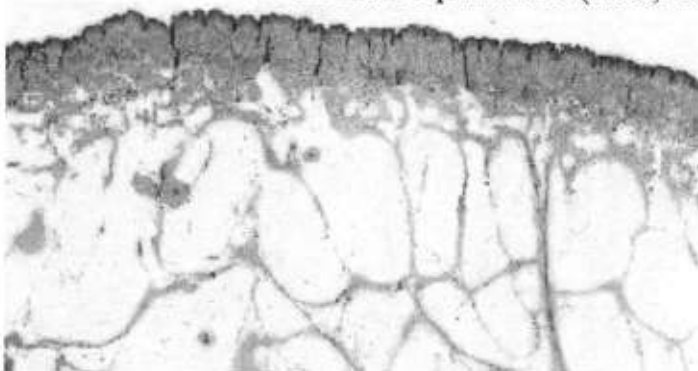
telapak tangan dan telapak kaki. 3) *Stratum granulosum* : terdiri dari 3 sampai 4 lapisan sel. Keratin terbentuk pada lapisan ini yang merupakan protein penting untuk kekuatan kulit. 4). *Stratum spinosum* : lapisan ini mengandung sel yang berubah bentuk dari kolumnar ke poligonal. Keratin juga terbentuk pada lapisan ini. 5). *Stratum basalis* : lapisan ini adalah lapisan terdalam epidermis, di mana banyak sel aktif dan mitosis (Revis & Seagle, 2006).

2.2.2.2 Dermis

Dermis adalah lapisan besar kedua kulit. Ini adalah lapisan tebal terdiri dari jaringan penghubung yang kuat. Dermis dibagi menjadi dua tingkat yaitu : 1). Lapisan atas (lapisan papilari), terdiri dari jaringan ikat longgar. 2). Lapisan bawah (lapisan retikular), terdiri dari jaringan yang lebih erat. Dermis terdiri dari matriks kolagen, elastin dan jaringan kapiler dan saraf. Kolagen berkaitan dengan kekuatan kulit, elastin untuk mempertahankan elastisitas jaringan kapiler pasokan nutrisi ke berbagai lapisan kulit. Dermis mengandung sejumlah sel dan struktur khusus, yaitu folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar sebacea (memproduksi sebum) dan kuku. Dermis berperan penting dalam mengontrol suhu kulit dan bertindak sebagai bantalan terhadap cedera mekanis. Pada proses penyembuhan luka, di daerah dermis terbentuk jaringan granulasi (Revis & Seagle, 2006).



Gambar 2.3 Gambar skematis lapisan kulit (Ross, 2003)



Gambar 2.4 Gambaran mikroskopis lapisan kulit (Ross, 2003)

2.2.3 Proses Pergantian Sel Epidermis

Keratinosit pada stratum basalis bermitosis menjadi dua sel anak yang identik pada hari pertama. Satu sel tetap berada pada lapisan basalis. Satu sel yang lain bergerak menuju lapisan atas epidermis dan mengalami perubahan morfologi keratinisasi. Pada hari kedua sampai hari ke-lima belas segera setelah keratinosit bergerak ke lapisan diferensiasi, intinya berputar dan membesar. Badan sel membesar dan membentuk lebih datar. Inti menjadi rusak dan organel kurang terlihat di bawah stratum korneum. Lapisan diferensiasi terdiri dari antara delapan sampai lima belas lapisan sel yang merupakan lapisan tebal epidermis. Perkembangan dan pemerataan bentuk keratinosit terjadi pada lapisan ini.

Sebanyak 6 lapisan sel yang terbentuk pada lapisan awal disebut lapisan *Malpighi*. Keratinosit pada lapisan ini berfungsi menghasilkan keratin, sebuah protein fibrosa yang mengisi masa sel. Keratinosit menghasilkan *lamellar bodies* yang penuh dengan lipid dan protein. Butiran ini bermigrasi ke arah pinggiran sel dan mengeluarkan matriks terdiri dari lipid, kolesterol, asam lemak jenuh dan ceramid ke ruang interselular. Komponen tersebut meningkatkan kohesi antar sel, sehingga memberikan kontribusi untuk membuat epidermis sebagai penghalang yang efektif.

Keratinosit menjadi datar dan intinya mulai merosot ketika bergerak menuju lapisan atas. Keratinosit menjadi lebih pipih, inti dan organel menghilang, dan penuh dengan keratin pada hari ke-enam belas sampai hari ke-dua puluh empat di dasar lapisan korneum. Sel ini disebut korneosit. Keratin adalah protein tidak larut air dan merupakan 95% dari semua protein yang terdapat dalam epidermis. Membran korneosit sangat tebal, dan di bagian luar dilapisi oleh matriks sehingga memberikan sifat penghalang tahan air sebagai karakter kulit. Korneosit kehilangan kohesi dan terpisah dari permukaan satu per satu akibat aktivasi enzim spesifik yang terprogram. Proses tersebut dikenal sebagai deskuamasi (Revis & Seagle, 2006).

2.3 Proses Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang kompleks. Berbagai kegiatan bioseluler dan biokimia terjadi berkesinambungan. Penggabungan respons vaskuler, aktivitas seluler dan terbentuknya mediator di daerah luka

merupakan komponen yang saling terkait pada proses penyembuhan luka (Baxter, 1990).

Luka adalah rusaknya komponen jaringan, dimana secara spesifik terdapat substansi jaringan yang rusak atau hilang. Terminologi luka yang dihubungkan dengan waktu penyembuhan dapat dibagi menjadi : 1). Luka akut, yakni luka dengan masa penyembuhan sesuai dengan konsep penyembuhan yang telah disepakati, 2). Luka kronis, yakni luka yang mengalami kegagalan atau keterlambatan dalam proses penyembuhan dikarenakan faktor eksogen atau endogen (Baxter , 1990).

Tubuh akan melakukan mekanisme untuk mengembalikan komponen jaringan yang rusak pada saat terjadi kejadian luka. Mekanisme tersebut dengan membentuk struktur baru dan fungsional sama dengan keadaan sebelumnya. Proses penyembuhan tidak terbatas pada proses regenerasi yang bersifat lokal. Proses penyembuhan juga sangat dipengaruhi oleh faktor endogen (umur, nutrisi, imunologi, pemakaian obat, kondisi metabolik). Proses penyembuhan ditandai dengan terjadinya proses katabolik dan proses anabolik. Proses anabolik dimulai sesaat setelah terjadi perlukaan dan terus berlanjut pada keadaan dimana dominasi proses katabolik selesai (Enoch & Leaper, 2005).

2.3.1 Tahap Penyembuhan Luka

Setiap proses penyembuhan luka terjadi melalui 4 tahapan yang dinamis, saling terkait dan berkesinambungan serta tergantung pada tipe/jenis dan derajat luka. Tahapan penyembuhan luka terdiri dari : 1). Fase hemostasis, yakni fase dimana berfungsi untuk menghentikan perdarahan yang terjadi dan mencegah kerusakan jaringan lebih lanjut, 2). Fase inflamasi, yakni fase dimana berfungsi

untuk membersihkan tempat luka dari benda asing atau kuman sebelum dimulai proses pemulihan jaringan, 2). Fase proliferasi/granulasi, yakni fase dimana terjadi pembentukan jaringan granulasi untuk menutup defek atau cedera pada jaringan yang luka, dan 3). Fase maturasi/diferensiasi, yakni fase dimana terjadi maturasi jaringan penyembuhan yang telah terbentuk menjadi lebih matang dan fungsional (Tsirogianni *et al*, 2006).

2.3.1.1 Fase Hemostasis

Fase hemostasis bertujuan untuk menghentikan perdarahan dan mencegah kerusakan jaringan lebih lanjut. Vasokonstriksi sesaat dan pembentukan *hemostatis plug* terjadi pada fase ini. Kerusakan pembuluh darah menyebabkan keluarnya platelet pada awal fase ini. Platelet akan membentuk plak hemostasis sehingga dapat menutup vaskular yang terbuka dan mengeluarkan mediator kimia yang merangsang vasokonstriksi sehingga akan menutup pembuluh darah (Baxter, 1990).

Vasokonstriksi sesaat hanya berlangsung 5-10 detik. Vasokonstriksi terjadi akibat pelepasan endotelin oleh endotel yang terluka dan pelepasan tromboksan oleh platelet.

2.3.1.2 Fase Inflamasi

Fase inflamasi adalah respons vaskuler dan seluler yang terjadi akibat perlukaan pada jaringan lunak. Tujuan yang hendak dicapai adalah membersihkan area luka dari benda asing, sel debris dan bakteri, sekaligus mempersiapkan proses pemulihan jaringan.

Vasodilatasi kapiler terjadi setelah vasokonstriksi sesaat. Vasodilatasi terjadi karena stimulasi saraf sensoris dan mediator vasodilator seperti histamin,

serotonin dan bradikinin. Histamin juga mengakibatkan meningkatnya permeabilitas vena, sehingga cairan plasma darah keluar dari pembuluh darah dan masuk ke daerah luka sehingga terjadi edema di jaringan sekitar luka. Eksudasi ini mengakibatkan migrasi leukosit (terutama neutrofil) ke ekstra vaskuler. Fungsi neutrofil adalah melakukan fagositosis benda asing dan bakteri di daerah luka selama 3 hari. Neutrofil kemudian digantikan oleh makrofag yang berperan lebih besar pada proses penyembuhan luka. Fungsi makrofag disamping fagositosis adalah sintesa kolagen, pembentukan jaringan granulasi, dan produksi faktor pertumbuhan. Faktor pertumbuhan tersebut berperan pada reepitelisasi, pembentukan kolagen, dan pembentukan pembuluh kapiler baru atau angiogenesis (Tsirogianni *et al*, 2006).

Fase inflamasi secara klinis ditandai dengan adanya eritema, hangat pada kulit, edema dan rasa sakit yang berlangsung sampai hari ke-3 atau hari ke-4.

2.3.1.3 Fase Proliferasi

Fase ini bertujuan untuk memperbaiki dan menyembuhkan luka. Proses kegiatan seluler yang terjadi ditandai dengan proliferasi sel. Peran fibroblas sangat besar pada proses perbaikan, yaitu menghasilkan struktur protein yang digunakan selama proses rekonstruksi jaringan. Pemaparan fibroblas sangat jarang dan biasanya bersembunyi di matriks jaringan penunjang pada jaringan lunak normal (tanpa perlukaan). Fibroblas aktif bergerak dari jaringan sekitar luka ke dalam daerah luka sesudah luka terjadi. Fibroblas akan berproliferasi dan mengeluarkan beberapa substansi. Substansi tersebut adalah kolagen, elastin, asam hyaluronat, fibronektin dan proteoglikan yang berperan dalam rekonstruksi jaringan baru (Enoch & Leaper, 2005).

Fungsi kolagen adalah membentuk jaringan ikat baru (*connective tissue matrix*). Sejumlah sel dan pembuluh darah baru yang tertanam di dalam jaringan baru tersebut disebut sebagai jaringan granulasi. Proses proliferasi fibroblas dengan aktifitas sintetiknya disebut fibroblasia. Respons fibroblas pada proses fibroplasia adalah proliferasi, migrasi, deposit jaringan matriks, dan kontraksi luka.

Angiogenesis suatu proses pembentukan pembuluh kapiler baru didalam luka. Angiogenesis mempunyai arti penting pada tahap proliferasi pada proses penyembuhan luka. Kegagalan vaskular akibat penyakit (diabetes), pengobatan (radiasi) atau obat (preparat steroid) mengakibatkan lambatnya proses penyembuhan. Jaringan vaskular berinvasi kedalam luka merupakan respons untuk memberikan oksigen dan nutrisi yang cukup di daerah luka, karena pada daerah luka terdapat keadaan hipoksia dan turunnya tekanan oksigen. Fibroplasia dan angiogenesis merupakan proses terintegrasi dan dipengaruhi oleh faktor pertumbuhan yang dikeluarkan oleh platelet dan makrofag.

Proses selanjutnya adalah epitelisasi, dimana makrofag mengeluarkan *epidermal growth factor* (EGF) dan fibroblas mengeluarkan *keratinocyte growth factor* (KGF) yang berperan dalam stimulasi mitosis sel epidermal. Keratinisasi akan dimulai dari pinggir luka dan akhirnya membentuk barrier yang menutupi permukaan luka. Pembentukan lapisan dermis akan disempurnakan kualitasnya dengan mengatur keseimbangan jaringan granulasi dan dermis. Fibroblas berubah menjadi miofibroblas yang mempunyai kapasitas melakukan kontraksi pada jaringan, untuk membantu jaringan baru tersebut menutup luka. Fungsi kontraksi

akan lebih menonjol pada luka dengan defek luas dibandingkan dengan defek luka minimal (Baxter, 1990).

Fase proliferasi akan berakhir jika epitel, dermis, dan lapisan kolagen telah terbentuk. Ini terlihat dengan proses kontraksi dan dipercepat oleh faktor pertumbuhan yang dibentuk oleh makrofag dan platelet.

2.3.1.4 Fase Maturasi

Fase ini dimulai pada minggu ke-3 setelah perlukaan dan berakhir sampai kurang lebih 12 bulan. Tujuan dari fase maturasi adalah menyempurnakan terbentuknya jaringan baru menjadi jaringan penyembuhan yang kuat dan bermutu. Fibroblas sudah mulai meninggalkan jaringan granulasi, warna kemerahan dari jaringan mulai berkurang karena pembuluh mulai regresi, dan serat fibrin dari kolagen bertambah banyak untuk memperkuat jaringan parut. Kekuatan dari jaringan parut mencapai puncaknya pada minggu ke-10 setelah perlukaan. Sintesa kolagen yang dimulai sejak fase proliferasi akan dilanjutkan pada fase maturasi. Pemecahan kolagen terjadi oleh enzim kolagenase, selain terjadi pembentukan kolagen. Kolagen muda (*gelatinous collagen*) yang terbentuk pada fase proliferasi akan berubah menjadi kolagen yang lebih matang, yaitu lebih kuat dan struktur lebih baik (proses remodeling).

Keseimbangan antara kolagen yang diproduksi dengan yang dipecahkan untuk mencapai penyembuhan yang optimal. Kolagen yang berlebihan menyebabkan terjadi penebalan jaringan parut (*hypertrophic scar*). Kolagen yang kurang akan menurunkan kekuatan jaringan parut sehingga luka akan dapat terbuka (*wound dehiscence*). Luka dikatakan sembuh jika terjadi kontinuitas lapisan kulit dan kekuatan jaringan kulit mampu melakukan aktivitas normal.

Hasil penyembuhan yang dicapai tergantung dari kondisi biologis individu, dan lokasi serta luasnya luka. Pasien muda dan sehat mencapai proses yang lebih cepat dibandingkan dengan pasien kurang gizi dan disertai dengan penyakit sistemik (contoh, diabetes melitus).

Penelitian dasar klinik mengenai perawatan luka berbasis suasana lembab (*moist*) telah memberikan pandangan yang berbeda diantara para pakar. Perawatan luka tertutup untuk tercapai keadaan lembab telah dapat diterima secara universal sebagai standar baku untuk berbagai tipe luka. Alasan rasional teori perawatan luka dalam suasana lembab adalah fibrin yang terbentuk pada luka kronis dapat dengan cepat dihilangkan (fibrinolitik) oleh netrofil dalam suasana lembab, keadaan hipoksi pada perawatan tertutup akan merangsang lebih cepat angiogenesis, kejadian infeksi lebih rendah dibandingkan dengan perawatan terbuka (2,6% vs 7,1%), pembentukan *growth factor* yang berperan pada proses penyembuhan dipercepat pada suasana lembab, dan invasi netrofil yang diikuti oleh makrofag, monosit, dan limfosit ke daerah luka terjadi lebih dini (Baxter, 1990).

2.3.2 Proses Penyembuhan Luka pada Kulit

Kulit merupakan organ terbesar dari tubuh manusia, terdiri dari lapisan epidermis dan dermis. Keratin epidermis berfungsi sebagai penghalang fisik untuk kulit, dan kolagen dermis menyediakan dukungan dan kekuatan pada kulit. Setiap luka pada kulit harus ditangani dengan cepat dan efisien, karena kulit berfungsi melindungi tubuh dari trauma eksternal. Penyembuhan luka melibatkan peran dari berbagai jenis sel pada berbagai proses, yaitu migrasi, proliferasi, diferensiasi, dan apoptosis. Jenis sel yang berperan dominan adalah sel epidermis, makrofag,

fibroblas, dan platelet. Berbagai sitokin dan protein *extracellular matrix* (ECM) juga berperan penting dalam penyembuhan luka. Penyembuhan luka adalah proses yang terorganisir dengan baik dari rangkaian peristiwa yang kontinu (Greenhalgh, 1998).

Faktor pembekuan darah dan agregasi trombosit membentuk gumpalan fibrin sebagai matriks sementara migrasi sel radang dan fibroblas ke area luka sesaat setelah cedera. Berbagai jenis sitokin dilepaskan ke daerah luka (Staiano *et al*, 2000). Sitokin tersebut seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor- α* (TGF- α), *transforming growth factor- β* (TGF- β), *epidermal growth factor* (EGF), *basic-fibroblast growth factor* (bFGF), dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF). Leukosit dan fibroblas menghasilkan sitokin lain sebagai reaksi terhadap sitokin tersebut, seperti *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) dan *interleukin-1* (IL-1).

Neutrofil tiba di daerah luka segera setelah terjadi jejas kemudian diikuti oleh makrofag dan monosit. Kemampuan leukosit untuk memfagositosis bakteri maupun debris sehingga membentuk kondisi yang mendukung terjadinya angiogenesis, migrasi sel, dan proliferasi sel. Neutrofil digantikan perannya oleh makrofag dalam beberapa hari. Makrofag berperan penting pada periode transisi antara fase inflamasi dan fase perbaikan jaringan. Makrofag mengeluarkan faktor pertumbuhan yang diperlukan untuk pembentukan jaringan granulasi, termasuk TGF- α , TGF β -, PDGF, VEGF, EGF, dan FGF (Newman *et al*, 1992).

Reepitelisasi dimulai beberapa jam setelah cedera akibat adanya migrasi dan proliferasi sel epitel ke daerah luka. Hemidesmosom antara sel epidermis menjadi larut sehingga sel epidermal diaktifkan untuk bermigrasi ke daerah luka

dan mengeluarkan sitokin seperti IL-1, TNF, TGF- α , dan TGF- β . Sel epidermis memproduksi enzim kolagenase untuk mendegradasi matriks ekstraselular untuk memfasilitasi migrasi sel ke ruang luka, (Kondo, 1999).

Makrofag, fibroblas, dan pembuluh darah menginvasi stroma untuk membentuk jaringan granulasi sekitar empat hari setelah cedera (Hunt, 1980). Makrofag merangsang proses fibroplasia dan angiogenesis dengan melepaskan faktor pertumbuhan. Fibroblas mensintesis matriks ekstraselular untuk memberikan dukungan struktural. Pembuluh darah menyuplai nutrisi ke area luka. Neovaskularisasi diperantarai oleh sejumlah mediator kimia, termasuk FGF-1, PDGF, TGF- α , TGF- β , dan VEGF. Fibroblas mengalami perubahan fenotipik ke miofibroblas dan bermigrasi ke dasar luka pada saat dua minggu setelah cedera (Singer & Clark, 1999).

Jaringan granulasi dan fibroplasia menyusut pada tahap maturasi. Tahap maturasi memerlukan waktu beberapa bulan. Jaringan hipertrofi akan mengurang dan matriks ekstraseluler yang sementara digantikan oleh matriks dermal kolagen selama tahap maturasi (Greenhalgh, 1998; Staiano *et al*, 2000). Degradasi matriks kolagen diperankan oleh enzim metaloproteinase yang disekresikan oleh sel epidermis, fibroblas, sel endotel, dan makrofag. Luka pada akhirnya digantikan oleh jaringan fungsional baru (Mignati *et al*, 1996).

2.4 Low Level Laser Therapy

Istilah laser merupakan singkatan dari *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*. Sinar laser dihasilkan dengan cara menembakkan energi ke dalam suatu medium yang berisi gas atau kristal padat. Gas atau kristal padat

tersebut biasanya mempunyai lintasan elektron luar yang stabil, misalnya helium, neon, krypton, argon dan karbon dioksida. Energi yang diserap oleh elektron akan menyebabkan lintasannya menjadi tidak stabil sehingga energi yang dihasilkan tetap konstan. Laser merupakan suatu gelombang elektromagnetik yang dapat berinteraksi dengan jaringan. Efek interaksi tersebut tergantung dari daya dan paparan yang diterima oleh jaringan.

2.4.1 Sejarah Laser

Laser ditemukan pada tahun 1960 oleh Theodore Maiman yang bekerja sebagai peneliti di *Hughes Research Laboratory*, Malibu-California. Maiman berhasil menciptakan suatu jenis sinar monokromatis yang mempunyai daya lebih besar daripada daya yang dihasilkan oleh sinar ultraviolet. Konsep emisi radiasi sinar laser ini diilhami oleh teori kuantum atom yang dilontarka oleh Albert Einstein pada tahun 1917 (Kert, 1989).

Laser dalam bidang kedokteran sudah banyak diaplikasikan, termasuk operasi, penyakit gigi, penyembuhan nyeri, dan radang sendi (Kawalec *et al*, 2004). Pengembangan teknologi laser sebagai alat non invasif untuk penyembuhan luka masih terus dilakukan. Beberapa macam laser yang terus dikembangkan antara lain: *Helium-Neon* (He-Ne), *Gallium-Arsenide* (Ga-As), *Aluminum Gallium Indium Phosphor* (AlGaInP), *Gallium-Aluminium-Arsenide* (GaAlAs), *Carbon Dioxide*, *Ruby*, dan *Argon*.

2.4.2 Batasan *Low Level Laser Therapy*

Low level laser therapy/ LLLT adalah penyinaran dengan laser yang berkekuatan rendah. *Low level laser* adalah sinar laser yang menghasilkan energi 1-4 joule, *output power* (daya keluar) 1-75 mWatt dan perubahan temperatur lokal

sebesar $0,5-0,75^{\circ}\text{C}$ (Basford, 1993). Sinar laser dihasilkan dengan cara menembakkan energi ke dalam suatu medium yang berisi gas atau kristal padat. Gas atau kristal tersebut biasanya mempunyai lintasan elektron luar yang stabil. Energi yang diserap oleh elektron menyebabkan lintasannya menjadi tidak stabil. Sinar laser mempunyai 3 sifat khusus yang tidak dimiliki oleh sinar jenis lainnya. Ketiga sifat tersebut adalah : 1). Monokromatis, yaitu bila dilewatkan pada kaca prisma sinar tersebut tidak terdispersi sehingga warnanya tetap sama antara masuk dan keluar prisma; 2). Koheren, yaitu panjang dan besar gelombang tetap sama sehingga energi yang dihasilkan tetap konstan; dan 3). Undireksional, yaitu sinar tersebut tetap konsentris walaupun dipancarkan dari jarak jauh (Ohshiro & Calderhead, 1988).

2.4.3 Fotobiologi

Sinar dimanfaatkan untuk pengobatan dalam dunia kedokteran sudah sejak lama. Sinar matahari adalah sinar yang paling tua yang dimanfaatkan untuk pengobatan. Pengobatan menggunakan sinar matahari disebut *heliotherapy*. Energi sinar matahari memberi efek biologi melalui suatu proses kimiawi jaringan yang disebut *foto kimiawi*. Penggunaan energi sinar untuk penyembuhan disebut sebagai *photo medicine*. Sinar matahari terdiri dari sinar ungu (*ultraviolet*) dan sinar infra merah (*infrared*). Laser sebagai transfer energi memberi efek biologi yang efisien dan mudah diatur.

2.4.4 Efek Biologi Sinar Laser

Studi eksperimental yang dilakukan tentang efek biologis *low level laser* adalah : 1). Menstimulasi pertumbuhan sel pada jaringan ikat, tendon, dan tulang; 2). Meningkatkan regenerasi sel saraf baik sentral maupun perifer sesudah trauma;

3). Meningkatkan aktifitas jaringan yaitu perubahan kadar prostaglandin, peningkatan kadar enzim, dan peningkatan produk selular; dan 4). Merangsang fungsi saraf. Panjang gelombang sinar laser pada intensitas tertentu untuk jangka waktu yang tepat dapat meningkatkan produksi ATP dan meningkatkan permeabilitas membran sel dan aktivitas *second messenger* sehingga mengakibatkan perubahan fungsional seperti peningkatan sintesis, sekresi, dan motilitas dari sel. Sinar laser bekerja pada mitokondria dan membran sel.

Energi laser yang jatuh pada jaringan hidup akan memberi reaksi biologi. Reaksi biologi yang terjadi tergantung dari jenis jaringan, jaringan sehat atau sakit, dan besaran energi laser. Laser dapat dimanfaatkan untuk berbagai kebutuhan dunia kedokteran, antara lain merusak jaringan tidak normal (kanker), mengiris jaringan normal (pisau bedah), dan menyembuhkan jaringan sakit (biostimulasi) (Ohshiro & Calderhead, 1988).

Secara praktis, efek biologi laser adalah destruksi, inhibisi, dan stimulasi dari sel. Efek biologi ini didapat dengan memainkan jenis energi laser berhubungan dengan panjang gelombang, besaran energi laser, dan model peralatan yang dipakai. Pemanfaatan laser berdasarkan efeknya, antara lain : 1). Panas untuk memotong, koagulasi, pengeringan jaringan dan pembuluh darah; 2). Foto kimia untuk stimulasi sel; 3). Tekanan dipakai untuk destruksi; 4). Elektromagnetik untuk merangsang jaringan maupun syaraf tujuan terapi (Ohshiro & Calderhead, 1988).

2.4.5 Interaksi Energi Laser dan Jaringan

Interaksi energi laser dan jaringan hidup berdasar pada efek panas, foto kimia, tekanan, dan elektro magnetik. Efek diterminasi biologi laser tergantung

pada besarnya absorpsi dan selektifitas yang berhubungan dengan frekuensi dan panjang gelombang laser.

Foton sinar laser akan bertumbukan dengan jaringan dan menimbulkan peristiwa absorpsi (transformasi energi), *scattering* (hamburan), transmisi (penghantaran), dan refleksi (pemantulan). Reaksi fotobiologi terjadi bila cahaya dengan panjang gelombang tertentu diserap oleh jaringan melalui suatu reseptor yang terdapat dalam sel. Absorpsi foton akan menimbulkan eksitasi dari ikatan elektron dari biomolekul, eksitasi dari atom dan menimbulkan osilasi, dan rotasi dari biomolekul melalui jalur elektromagnet. Eksitasi elektronik dapat terjadi pada absorpsi foton. Eksitasi elektronik merupakan suatu rangsangan perubahan listrik selular yang dapat mempengaruhi ekspresi mediator kimiawi, proliferasi sel, dan *matrix remodelling* (Ohshiro & Calderhead, 1988).

Penyerapan cahaya di tingkat sel dilakukan oleh suatu molekul yang disebut molekul foto akseptor (*photo acceptor molecule*). Molekul tersebut terlibat erat dalam rantai respirasi (*respiratory chain reaction*) dalam mitokondria, yaitu enzim sitokrom c-oksidadase. Enzim ini adalah suatu hemoprotein yang terdapat dalam mitokondria dan berperan dalam proses perpindahan elektron dari satu molekul ke molekul lain (Murray, 2003). Cahaya yang diserap oleh foto akseptor ini mengakibatkan perubahan keseimbangan elektron di tingkat molekul berupa perubahan dalam reaksi reduksi-oksidasi (*redox*) dan percepatan perpindahan elektron pada reaksi rantai respirasi (Karu, 2003).

Reaksi *redox* merupakan suatu reaksi kimia yang terjadi pada proses pembentukan ATP di dalam mitokondria. Reaksi ini terjadi berpasangan karena setiap molekul kehilangan satu elektron (oksidasi), akan diikuti oleh penambahan

satu elektron pada molekul lain (reduksi). Proses perpindahan elektron dari satu molekul ke molekul lain, diikuti dengan perubahan energi pada tingkat molekul. Molekul yang membebaskan elektron akan mendapat tambahan energi berupa energi panas dan energi kimia yang berguna untuk membentuk ATP. ATP merupakan sumber energi bagi sel untuk melakukan berbagai macam aktivitas seperti pembentukan protein (sitokin) dan proliferasi sel (Martini, 2001).

Perubahan yang terjadi pada tingkat seluler tergantung besarnya energi sinar laser yang diserap oleh foto akseptor. Penyerapan energi foton pada laser oleh foto akseptor mengakibatkan terjadinya reaksi primer pada mitokondria dan reaksi sekunder pada sitoplasma dan inti sel. Reaksi primer berupa percepatan perpindahan elektron pada rantai respirasi. Reaksi sekunder berupa penghantaran sinyal seluler (*cellular signaling*) dalam sitoplasma dan inti sel (Sihombing, 2006).

Mekanisme peningkatan sintesis DNA dalam inti sel akibat rangsangan cahaya yang diterima foto akseptor terjadi karena adanya hantaran sinyal intra seluler. Peningkatan sintesis DNA akibat rangsangan cahaya terjadi melalui 3 jalur. Jalur pertama melalui mekanisme kontrol kadar ATP intra seluler yang dilakukan oleh foto akseptor. Perubahan kadar ATP intra seluler dapat mempengaruhi aktivitas metabolisme sel. Jalur kedua dan ketiga dipengaruhi oleh status reduksi oksidasi seluler yang melibatkan faktor transkripsi yaitu *nuclear factor kappa β* (NF- χ β) dan *activator protein-1* (AP-1). Faktor transkripsi ini berfungsi meningkatkan modulasi ekspresi gen melalui peningkatan transduksi sinyal seluler dalam inti sel. Senyawa yang bersifat oksidan dapat merangsang

sinyal intra seluler dan senyawa yang bersifat reduktan dapat menghambat sinyal intra seluler (Sihombing, 2006).

2.4.6 Efek Klinis *Low Level Laser*

Profesor Pontinen PJ, pelopor terapi laser di Skandinavia pada bukunya yang berjudul *Low Level Laser as a Treatment Modality* menyatakan bahwa efek *low level laser*, adalah sebagai berikut : 1). Meningkatkan sirkulasi arterial : baik vasodilatasi maupun neovaskularisasi; 2). Meningkatkan aliran vena dan limfa sehingga menurunkan edema secara klinis; 3). Mengurangi radang pada jaringan; 4). Mempercepat pertumbuhan sel; 5). Mempercepat reepitelisasi; 6). Mempercepat pembentukan kolagen; 7). Mempercepat penyembuhan luka; 8). Meminimalisasi bekas luka; 9). Mengurangi pembentukan keloid; 10). Meningkatkan energi pada jaringan dengan peningkatan ATP dan peningkatan RNA dan DNA; 11). Perangsangan pertumbuhan rambut.

Low level laser dapat menginduksi dan mempercepat proses radang dengan cara berikut, 1). Stabilisasi membran sel, dengan cara meningkatkan produksi *reactive oxygen reactive* (ROS); 2). Peningkatan sintesis ATP, dengan cara merangsang enzim sitokrom c-oksidadase; 3). Vasodilatasi vaskular, dengan cara meningkatkan sekresi histamin, serotonin dan nitrit oksid; 4). Peningkatan aktivitas lekosit; 5). Peningkatan sintesis prostasiklin, dengan cara memfasilitasi prostaglandin H₂ menjadi prostaglan I₂ (prostasiklin). Prostasiklin bersifat vasodilator; 6). Penghambatan pembentukan interleukin-1 (IL-1); 7). Perangsangan angiogenesis, melalui peningkatan nitrit oksid, VEGF, dan IFN- γ ; 8). Peningkatan kadar *superoxide dimutase* (SOD), dimana SOD berikatan dengan

ROS untuk menetralkan efek radikal bebas dan SOD dapat mempercepat berakhirnya proses inflamasi; dan 9). Penghambatan pembentukan *c-reactive protein* (CRP), dimana CRP merupakan salah satu petanda inflamasi (*inflammation marker*).

Iradiasi *low level laser* dapat digunakan untuk mengurangi nyeri, dengan cara berikut: 1). Peningkatan pembentukan β -endorphin; 2). Penghambatan depolarisasi transmisi saraf aferen yang menghantarkan ransangan sensoris; 3). Peningkatan sekresi nitrit oksid, dimana senyawa ini diperlukan untuk membangkitkan potensial aksi pada membran sel saraf dan dapat meningkatkan perfusi dan oksigenasi sel saraf; 3). Peningkatan potensial aksi sel saraf; 4). Penghambatan sekresi bradikinin, yang dapat menstimulasi reseptor nosiseptif saraf aferen pada kulit dan organ visera; 4). Peningkatan sekresi asetil kolin; dan 5). Penormalan konsentrasi ion kalsium, natrium, dan kalium pada sel saraf yang rusak.

Iradiasi dengan *low level laser* dapat mempercepat proses penyembuhan jaringan, melalui cara berikut: 1). Peningkatan infiltrasi leukosit; 2). Peningkatan aktivitas makrofag dalam hal fagositosis, sekresi faktor pertumbuhan dan pembentukan kolagen; 3). Peningkatan neovaskularisasi melalui aktivasi endotel; 4). Percepatan epitelisasi; 5). Peningkatan proliferasi fibroblas dan pembentukan kolagen; dan 6). Peningkatan sekresi faktor pertumbuhan.

Keuntungan iradiasi dengan *low level laser* adalah tidak menimbulkan nyeri, tidak menyebabkan infeksi, dosis dapat diatur dengan tepat, waktu pengobatan relatif lebih pendek, dan tidak terjadi destruksi jaringan.

2.4.7 *Low Level Laser* dan Proses Penyembuhan Luka

Beberapa laporan menunjukkan bahwa iradiasi dengan *low level laser* dapat merangsang penyembuhan luka. Mekanisme perangsangan penyembuhan luka oleh *low level laser* adalah belum jelas. Beberapa penelitian telah dilakukan pada sel imunokompeten seperti limfosit dan makrofag untuk memahami hal tersebut pada tingkat sel. Studi dengan limfosit menunjukkan bahwa iradiasi laser dapat mengakibatkan peningkatan produksi sitokin, aktivitas fagositosis dan aktivasi leukosit. Studi dengan makrofag menunjukkan peningkatan aktivitas enzim lisozim dan asam fosfatase, stimulasi dari pelepasan faktor pertumbuhan, dan peningkatan aktivitas fagositosis. Beberapa efek laser dikaitkan dengan peningkatan potensial membran sel sehingga terjadi peningkatan influks kalsium. Kalsium intrasel berikatan dengan kalsinurin yang akan mengaktifkan *Nuclear Factor $\chi\beta$* (NF- $\chi\beta$). NF- $\chi\beta$ mengstimulus proses transkripsi dalam inti sel (Dube, 2003). Beberapa data penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa *low level laser* memfasilitasi sintesis kolagen, merangsang motilitas keratinosit, pelepasan faktor pertumbuhan, dan mengubah fibroblas menjadi miofibroblas (Riberio & Albuquerque, 2009). Miofibroblas adalah fibroblas termodulasi sehingga menunjukkan penampakan sel otot polos yang terdiri dari bundel mikrofilamen. Fibroblas berubah menjadi miofibroblas karena adanya diferensiasi sel otot polos dari sebagian fibroblas. Diferensiasi fibroblas menjadi miofibroblas diinduksi oleh adanya rangsangan dari endotelin, TGF β dan trombin (Gabbiani, 2004). Radiasi dengan *low level laser* dapat menyebabkan efek biologi seperti merangsang proliferasi sel, sintesa kolagen, pelepasan faktor pertumbuhan, stimulus terhadap makrofag dan limfosit (Silveira *et al*, 2009).

Mitokondria merupakan organel sel yang sensitif terhadap sinar monokromatik, seperti *low level laser*. Energi laser dapat meningkatkan sintesa *adenosine triphosphate* (ATP) dan konsumsi oksigen. Radiasi dengan sinar dengan panjang gelombang 909 nm dapat meningkatkan potensial membran dan gradien proton, sehingga menyebabkan perubahan pada materi optik mitokondria, modifikasi reaksi *nicotinamide adenine dinucleotide dehidrogenase* (NADH dehidrogenase), dan peningkatan perubahan *adenosine diphosphate* (ADP) menjadi ATP (Silveira *et al*, 2009). Berbagai literatur menyatakan bahwa sitokrom c-oksidadase (*mitokondria respiratory chain complex IV*) menerima rangsangan dari sinar laser, sehingga terjadi peningkatan transfer elektron, respirasi mitokondria dan sintesa ATP. Peningkatan produksi ATP akan menginduksi metabolisme seluler (Silveira *et al*, 2009).

Tabel 2.1 Dosis Laser dan Efek Klinis (Ohshiro & Calderhead, 1988):

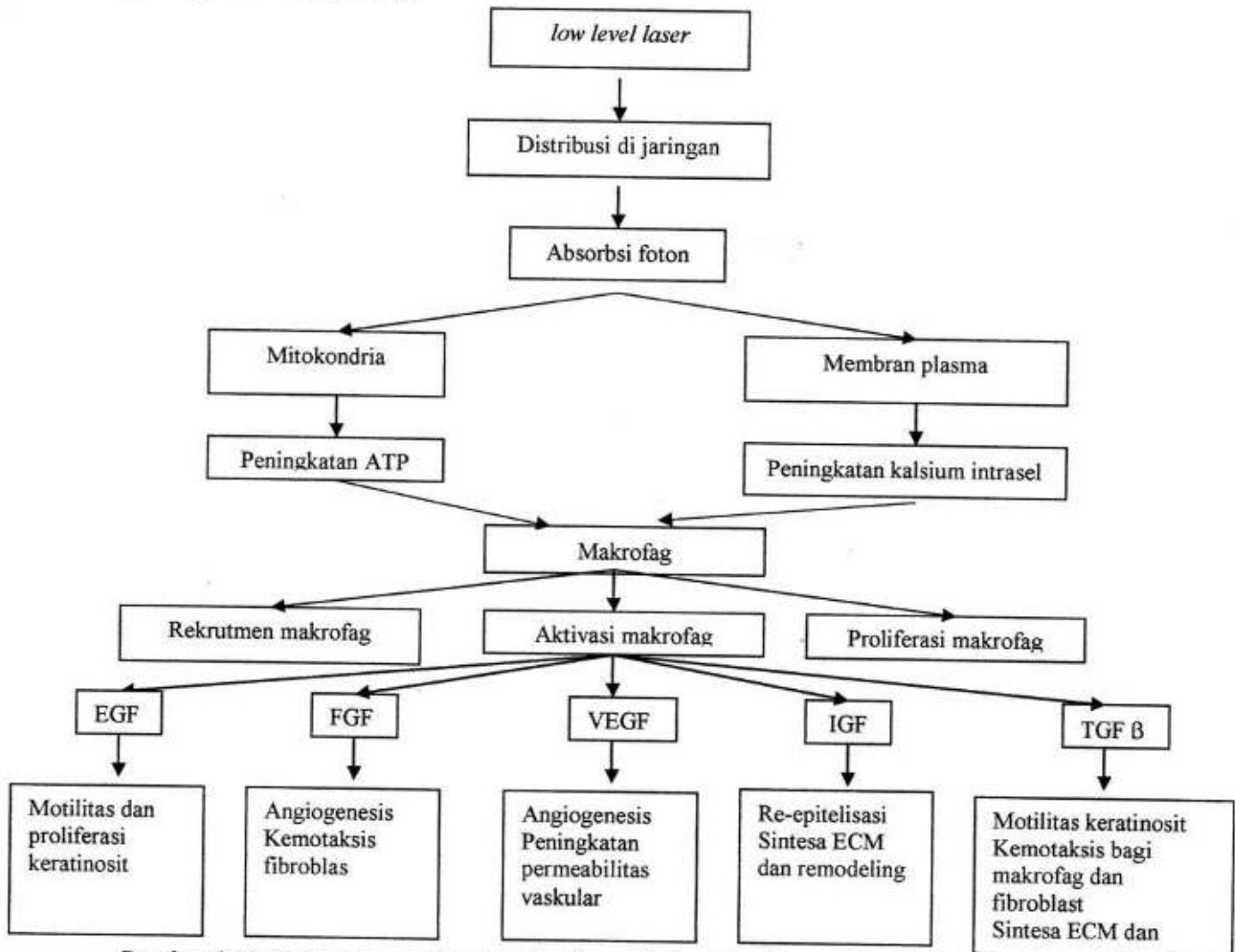
Efek Klinis	Onset	Dosis Laser
Relaksasi otot	Segera	2 J
Stimulus titik akupunktur	Segera	0,1-0,5 J
Stimulus saraf	Segera	2 J
Penanganan kontraktur	Segera/hari	5-7 J
Perbaikan sirkulasi mikro	Menit/jam	1-3 J
Efek anti inflamasi pada inflamasi akut	Menit/jam	1-3
Efek anti inflamasi pada inflamasi kronis	Hari/minggu	3-6 J
Penanganan nyeri	Menit/jam	1-4 J
Revaskularisasi	Jam/hari	2-3 J
Regenerasi sel saraf	Hari	2 J
Penyembuhan luka	Hari/minggu	1-4 J

Dasar reaksi sel terhadap sinar laser adalah interaksi antara foton yang terkandung pada laser dengan sel yang terkena radiasi laser. Foton adalah partikel elementer sebagai pembawa radiasi elektromagnetik. Foton tidak bermassa dan dalam ruang vakum selalu bergerak dengan kecepatan cahaya. Foton memiliki baik sifat gelombang maupun partikel.

Absorpsi energi foton ke dalam suatu molekul menyebabkan peningkatan energi kinetik dari molekul tersebut. Hal tersebut dapat mengstimulus atau menghambat dari aktivitas sel. Efek laser terhadap sel dapat dibagi menjadi 2, yaitu efek primer dan efek sekunder. Efek primer yaitu peningkatan transfer elektron, fosforilasi oksidatif dan sintesa ATP. Efek primer terjadi karena absorpsi foton oleh sitokrom c-oksidadase pada mitokondria. Efek sekunder yaitu terjadi perubahan pH, aktivasi sel dan peningkatan kalsium intraseluler. Konsentrasi kalsium intraseluler yang tinggi merangsang proses biologi seperti proliferasi sel, kontraksi sel, dan pergerakan sel (Whientfield & Aitkenhead, 2009).

Peningkatan ATP dan konsentrasi kalsium sitosol makrofag dapat mengaktifkan makrofag. Makrofag teraktivasi melepas sitokin maupun faktor pertumbuhan yang memperkuat respon inflamasi dan merangsang perbaikan jaringan di daerah luka. Faktor pertumbuhan yang dilepaskan makrofag adalah *Epidermal Growth Factor* (EGF) yang berfungsi merangsang motilitas dan proliferasi keratinosit; *Transforming Growth Factor β* (TGF β) yang berfungsi merangsang motilitas keratinosit, kemotaksis bagi makrofag dan fibroblas, sintesa matriks ekstra seluler, dan remodeling; *Fibroblast Growth Factor* (FGF) yang berfungsi untuk merangsang angiogenesis dan proliferasi fibroblas; *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) yang berfungsi merangsang angiogenesis dan

meningkatkan permeabilitas vaskular; dan *Insulin-like Growth Factor* (IGF) yang berfungsi untuk merangsang reepitelisasi dan pembentukan matriks ekstraseluler (Tsirogianni *et al*, 2006).



Gambar 2.5 Mekanisme aktivasi makrofag oleh *low level laser* (modifikasi dari Whientfield & Aitkenhead, 2009 dan Tsirogianni *et al*, 2006)

Keterangan :

EGF : *Epidermal Growth Factor*

ECM : *extra cellular matrix*

TGF β : *Transforming Growth Factor β*

FGF : *Fibroblast Growth Factor*

VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*

IGF : *Insulin-like Growth Factor*

2.5 *Silver Sulfadiazine*

2.5.1 Sejarah *Silver Sulfadiazine*

Selama beberapa abad senyawa *silver* telah diketahui telah sifat bakterisida. *Silver* digunakan membunuh kuman yang terdapat pada air minum pada awal tahun 1000 SM (Wright *et al*, 1998). Senyawa *silver* dimanfaatkan sebagai obat untuk mengobati tetanus dan rematik pada abad 19 dan mengobati pilek dan gonore sebelum munculnya antibiotik di awal abad 20 (Mirsatari, 2004). Senyawa *silver* saat ini digunakan sebagai pengobatan untuk infeksi pada luka bakar, luka terbuka, dan ulkus kronis (Klasen, 2001).

Silver sulfadiazine diperkenalkan oleh Fox di tahun 1970-an sebagai agen antibakteri topikal perawatan luka bakar dan luka lainnya. Kompleks dari *silver* nitrat dan natrium sulfadiazine menghasilkan *silver sulfadiazine* (Klasen, 2001).

Standar baku dalam pengobatan topikal untuk pencegahan infeksi pada lesi luka bakar adalah *silver sulfadiazine* (Ag-SD). Penelitian terbaru menunjukkan bahwa senyawa *silver* dapat menunda proses penyembuhan luka dan memiliki aktivitas sitotoksik pada berbagai host (Cho Lee *et al*, 2005). Berbagai literatur menyatakan bahwa *silver* bersifat toksik untuk keratinosit dan fibroblas (Poon & Burd, 2004). Fibroblas lebih sensitif terhadap *silver* daripada keratinosit.

2.5.2 *Silver Sulfadiazine* untuk Pengobatan Infeksi

Penggunaan antimikroba topikal penting untuk mencegah infeksi pada luka bakar. *Silver sulfadiazine* berguna untuk profilaksis atau terapi terhadap kolonisasi mikroorganisme yang dapat menghalangi proses penyembuhan luka. *Silver* merupakan antimikroba spektrum luas terhadap jamur dan bakteri, termasuk *Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus* (MRSA) dan *Vancomisin-*

Resistant Enterococci (VRE) (Kirsner *et al*, 2001). *Silver* sebagai logam relatif sulit diserap oleh sel mamalia dan sel bakteri. *Silver* mudah mengionisasi dan menjadi sangat reaktif dalam pengikatan protein dan membran sel pada eksudat luka atau cairan lainnya. *Silver* seperti halnya logam berat lain, bersifat toksik bagi mikroorganisme oleh karena dapat merusak sistem respirasi dan sistem transpor elektron serta DNA (Cervantes & Silver, 1996). *Silver* berinteraksi dengan protein struktural dan mengikat dengan basa DNA untuk menghambat replikasi (Russel & Hugo, 1994). Studi *vitro* memberikan bukti bahwa efek bakterisida *silver* sebagian besar disebabkan pengikatan dengan kelompok sulfidril bebas pada bakteri atau pada permukaannya sehingga menyebabkan inaktivasi enzim *phosphomannose isomerase*. *Silver* berinteraksi dengan protein sitosol, enzim, mitokondria, dan DNA atau RNA. Penggunaan *silver sulfadiazine* dapat menurunkan insiden infeksi yang dapat menunda penyembuhan luka (Wright *et al*, 1999).

2.5.3 *Silver Sulfadiazine* dan Proses Penyembuhan Luka

Toksisitas *silver* dalam perawatan luka bakar menjadi perhatian belakangan ini. Perawatan ekstensif luka bakar akut dengan *silver sulfadiazine* (SSD) mengangkat kekhawatiran tentang potensi toksisitas *silver* (Trop *et al*, 2006). Penelitian laboratorium membuktikan bahwa keratinosit dan fibroblas rentan terhadap kerusakan mematikan saat terpapar dengan *silver* pada konsentrasi yang mematikan untuk bakteri. Penelitian tersebut juga membuktikan bahwa *silver* tidak dapat membedakan antara sel sehat yang terlibat dalam penyembuhan luka dan bakteri patogen (Poon & Burd, 2004). Proses penyembuhan luka melibatkan rangkaian peristiwa termasuk peradangan di sekitar lokasi cedera,

angiogenesis, pembentukan jaringan granulasi, perbaikan jaringan ikat, reepitelisasi, dan maturasi jaringan yang mengarah pada luka sembuh. Kondisi yang dapat menghambat penyembuhan luka adalah adanya kolonisasi mikroorganisme pada dasar luka. Keberadaan mikroorganisme di dasar luka dapat menyebabkan respons peradangan berkepanjangan. Mikroorganisme juga dapat memproduksi berbagai toksin dan enzim protease yang dapat merangsang proses inflamasi. Respon inflamasi sangat efektif untuk menghilangkan mikroba, tetapi pada waktu yang bersamaan dapat juga merusak jaringan sekitarnya (Wright *et al*, 1998).

Penggunaan antimikroba profilaksis penting dalam mencegah dan mengurangi mikroba pada luka. Penyembuhan luka akan tertunda jika luka menjadi terinfeksi. Peningkatan beban bakteri di permukaan dan dalam jaringan luka dapat meningkatkan metabolisme. Bakteri menghasilkan endotoksin, eksotoksin, dan protease yang dapat menyebabkan cedera jaringan lokal. Kehadiran bakteri pada luka menginduksi migrasi monosit, makrofag, dan leukosit, yang awalnya bertindak secara tepat tapi kemudian dapat menghasilkan respons berlebihan dan merugikan (Warriner & Burrel, 2005). Studi mendukung konsep pemberantasan infeksi untuk membantu penyembuhan luka. Pengurangan infeksi bakteri pada luka, akan menguntungkan pada dinamika transport oksigen sehingga berdampak positif pada metabolisme selular. Penanganan terhadap infeksi dapat mengurangi respons inflamasi dan menyesuaikan kapasitas jaringan menanggapi sinyal sel untuk fase perbaikan jaringan selanjutnya (Warriner & Burrel, 2005).

Silver sulfadiazine digunakan secara topikal pada luka sebagai tindakan profilaksis terhadap infeksi mikroba. Tindakan profilaksis terhadap infeksi ini mendukung kondisi untuk terjadi penyembuhan luka yang optimal. Fokus utama penyembuhan luka adalah keseimbangan antara sintesis kolagen oleh fibroblas yang dirangsang oleh faktor pertumbuhan dan degradasi kolagen oleh enzim kolagenase yang dikenal sebagai *matriks metalloproteinases* (MMPs). *Silver* mengatur MMPs ke tingkat yang dapat memfasilitasi penyembuhan luka. Hasil dari beberapa penelitian menunjukkan bahwa *silver* berperan untuk menekan peristiwa peradangan di luka dan memfasilitasi tahap awal penyembuhan luka.

Insiden perlambatan penyembuhan luka sering diamati secara klinis pada penggunaan *silver* sebagai antimikroba topikal. Uji klinis dilakukan untuk melihat efek dari *silver sulfadiazine* pada laju penyembuhan luka bakar. Uji tersebut menunjukkan bahwa ada perlambatan yang jelas dalam proses penyembuhan luka yang diobati dengan *silver sulfadiazine* (Poon & Burd, 2004). Banyak reaksi yang merugikan dan efek samping dilaporkan bersama dengan meningkatnya resistensi terhadap *silver sulfadiazine* (Trop *et al*, 2006). *Silver* bersifat toksik terhadap sel ginjal, ini dilaporkan dan dikonfirmasi oleh tingginya konsentrasi *silver* di darah dan urine. Fungsi ginjal membaik pada penghentian *silver sulfadiazine* topikal krim. Leukopenia telah didokumentasikan sebagai efek samping pemakaian *silver sulfadiazine* berkepanjangan (Chaby *et al*, 2005). Studi *vitro* menunjukkan bahwa *silver sulfadiazine* bersifat sitotoksik (McCauley *et al*, 1989). *Silver sulfadiazine* menjadi pilihan utama yang digunakan dalam unit luka bakar. Beberapa penelitian *in vivo* menemukan tidak ada bukti untuk sitotoksitas dari *silver*. *Silver sulfadiazine* secara topikal tidak boleh digunakan untuk jangka waktu lama pada

luka luas. Studi lain mengukur efek penghambatan *silver* pada pertumbuhan keratinosit dan menyimpulkan *silver sitotoksik* terhadap keratinosit dan menghambat reepitelisasi (Innes, 2001). Studi tersebut menunjukkan bahwa setelah 72 jam paparan *silver sulfadiazine*, hampir tidak ada keratinosit yang hidup (Atiyeh *et al*, 2007).

2.6 Epidermal Growth Factor (EGF)

Faktor pertumbuhan epidermal atau *Epidermal Growth Factor* (EGF) adalah faktor pertumbuhan yang berperan dalam regulasi pertumbuhan sel, proliferasi, dan diferensiasi dengan cara mengikat reseptor *Epidermal Growth Factor' Receptor* (EGFR). EGF pada manusia adalah suatu protein 6.045-Da dengan 53 residu asam amino dan tiga ikatan disulfida (Carpenter, 1990).

EGF berperan dalam proliferasi seluler, diferensiasi, dan kelangsungan hidup. EGF berperan sebagai mitogen untuk banyak sel sel, seperti fibroblas, keratinosit, sel epitel dan sel otot polos (Mutsaer *et al*, 1997). EGF dimurnikan pertama kali dari kelenjar submandibular mencit, tapi sejak itu ditemukan dalam banyak jaringan manusia termasuk kelenjar submandibular dan kelenjar parotid. Sumber dari EGF adalah platelet, makrofag, urine, saliva, susu, dan plasma (Hebrst, 2004).

EGF bertindak dengan cara mengikat dengan afinitas tinggi terhadap reseptor faktor pertumbuhan epidermal (EGFR) pada permukaan sel. Ikatan EGF-EGFR merangsang aktivitas reseptor protein tirosin kinase. Aktivasi protein tirosin kinase akan memulai kaskade transduksi sinyal yang menghasilkan perubahan biokimia dalam sel. Perubahan biokimia tersebut seperti peningkatan

kadar kalsium intraseluler, peningkatan glikolisis dan sintesis protein, dan peningkatan ekspresi gen tertentu termasuk gen untuk EGFR yang pada akhirnya membawa meningkatkan sintesis DNA dan proliferasi sel .

Sitokin yang merupakan famili EGF adalah *Heparin-binding EGF-like growth factor* (HB-EGF), *transforming growth factor α* (TGF- α), *Amphiregulin* (AR), *Epiregulin* (EPR), *Epigen*, *Betacellulin* (BTC), dan *Neuregulin 1-4* (NRG 1-4). Anggota keluarga protein ini mirip berdasar karakteristik struktural dan fungsional. Semua anggota famili EGF mengandung satu atau lebih pengulangan sekuens asam amino CX7CX4-5CX10-13CXCX8GXRC. X merepresentasikan suatu asam amino. Urutan ini berisi 6 residu sistein yang membentuk ikatan disulfida tiga intramolekul. Pembentukan ikatan disulfida tiga loop struktural yang penting untuk tinggi afinitas mengikat antara anggota keluarga EGF dan reseptor permukaan sel (Harris *et al*, 2003).

2.7 Fibroblast Growth Factor (FGF)

Faktor pertumbuhan fibroblas atau *Fibroblast Growth Factors* (FGF) adalah faktor pertumbuhan yang berperan dalam angiogenesis, penyembuhan luka, dan perkembangan embrio. FGF adalah protein pengikat heparin dan berinteraksi dengan permukaan sel yang terkait proteoglikan heparan sulfat. FGF memegang peran utama dalam proses proliferasi dan diferensiasi berbagai sel dan jaringan.

Sebanyak 22 jenis FGF telah diidentifikasi pada manusia, yang semuanya terkait secara struktural molekul sinyal (Ornitz & Itoh, 2001). Kelompok FGF1 sampai FGF10 mengikat reseptor faktor pertumbuhan fibroblas (*Fibroblast*

Growth Factor Receptor/FGFR). FGF1 dikenal sebagai FGF-asam dan FGF2 dikenal sebagai FGF-dasar. Kelompok FGF11, FGF12, FGF13, dan FGF14 dikenal sebagai FGF homolog 1-4 (FHF1-FHF4). FGF homolog memiliki perbedaan fungsional dibandingkan dengan FGF. FGF homolog tidak mengikat FGF meskipun faktor tersebut memiliki urutan homolog yang mirip. FGF homolog terlibat dalam proses intraseluler tidak berhubungan dengan FGF. Kelompok FGF16 sampai FGF22 merupakan jenis baru dan tidak memiliki ciri spesifik (Olsen & Garbi, 2003).

Jenis reseptor faktor pertumbuhan fibroblas (FGFR) adalah FGFR1, FGFR2, FGFR3, dan FGFR4. FGFR terdiri dari 3 domain ekstraseluler tipe imunoglobulin (D1-D3), 1 pasang domain trans-membran dan 1 domain tirosin kinase intraseluler. FGF berinteraksi dengan domain D2 dan D3. Interaksi dengan domain D3 bertanggung jawab untuk mengikat ligan spesifik. Rantai pendek asam amino yang terletak antara domain D1 dan D2 memiliki fungsi penghambatan otomatis. FGFR terdiri dari 7 tipe yang dapat ditunjukkan pada permukaan sel. FGFR mengikat bagian tertentu dari FGFs. Sebagian besar FGF dapat mengikat beberapa tipe FGFR. FGF1 (*universal ligan*) dapat berikatan dengan 7 tipe FGFR. *Keratinocyte Growth Factor* (KGF/FGF7) hanya mengikat FGFR2b (KGFR).

FGF pertama kali ditemukan di ekstraks hipofisis oleh Armelin pada tahun 1973 dan kemudian juga ditemukan di ekstraks otak sapi oleh Gospodarowicz. Sampel kemudian difraksikan menggunakan asam dan pH asam sehingga terisolasi 2 bentuk yang berbeda yaitu FGF-asam (FGF1) dan FGF-dasar (FGF2).

FGF adalah protein dengan berbagai efek. FGF sering mempunyai efek sebagai mitogen tetapi tetap memiliki fungsi pengaturan, morfologi, dan efek

endokrin. FGF berperan selama perkembangan individu normal. Penyimpangan dari fungsi FGF akan menyebabkan kecacatan (Borland *et al*, 2001). Salah satu fungsi FGF1 dan FGF2 adalah induksi angiogenesis. Kedua faktor pertumbuhan tersebut lebih bersifat angiogenik daripada *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) atau *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF). FGF1 dan FGF2 selain merangsang angiogenesis, juga merangsang proliferasi fibroblas sehingga membentuk jaringan granulasi pada proses penyembuhan luka. FGF7 dan FGF10 (KGF2) merangsang proliferasi, migrasi dan diferensiasi dari sel epitel pada proses perbaikan jaringan (Vlodavsky *et al*, 2003).

2.8 Makrofag

Makrofag merupakan lekosit di dalam jaringan, yang berasal dari monosit yang bermigrasi ke intersisial. Monosit dan makrofag merupakan sel fagosit yang berperan baik imunitas non spesifik serta imunitas spesifik. Fungsi makrofag adalah untuk mengfagositir (menelan dan mencerna) debris dan patogen, dan untuk merangsang limfosit dan sel imun lainnya untuk merespon patogen. Makrofag bergerak secara amoeboid.

Monosit bermigrasi ke intersisial melalui sel endotel kemudian mengalami serangkaian perubahan untuk menjadi makrofag. Monosit tertarik pada jaringan yang rusak melalui proses kemotaksis oleh bahan kemoatraktan seperti sel nekrosis, patogen dan sitokin. Makrofag dapat bertahan lama dalam tubuh sampai beberapa bulan.

2.8.1 Fungsi Makrofag

Makrofag adalah sel serba guna yang memainkan banyak peran. Makrofag sebagai sel fagosit dapat memfagositir patogen melalui proses fagositosis. Makrofag dapat berperan sebagai sel yang mengekspresikan antigen (*Antigen Presenting Cell/APC*) dalam memulai suatu respon imunitas. Makrofag juga berfungsi sebagai sel sekretorik yang penting dalam regulasi respons imun dan peradangan. Makrofag sebagai sel sekretorik dapat menghasilkan berbagai macam zat kimia (monokin) termasuk enzim, protein komplemen, faktor pengaturan seperti interleukin-1, dan faktor pertumbuhan.

Makrofag setelah mencerna patogen akan menampilkan antigen dari patogen kepada limfosit T helper yang sesuai. Presentasi dilakukan dengan mengintegrasikan ke dalam sel membran dan menampilkan itu melekat pada sebuah molekul MHC kelas II.

2.8.2 Diferensiasi Makrofag

Makrofag paling banyak berada pada jaringan mengalami paparan dengan mikroba atau debu. Makrofag berdasarkan lokasi memiliki nama khusus yaitu makrofag alveolar di alveolus, histiosit di jaringan ikat, sel Kupffer di hepar, mikroglia di jaringan saraf, sel epiteloid di granuloma, osteoklas di tulang, sel sinusoid di limpa, sel mesangial di ginjal.

2.8.3 Aktivasi Makrofag

Makrofag diaktifkan melalui 2 jalur, yaitu klasik dan alternatif. Aktivasi makrofag klasik mengekspresikan fenotip TH-1 (limfosit *T-helper*) yang berfungsi menginduksi inflamasi, degradasi matriks ekstraselular (ECM). Aktivasi makrofag alternatif mengekspresikan fenotip TH-2 yang berfungsi menginduksi

sintesa ECM, proliferasi sel, dan angiogenesis. Aktivasi makrofag secara klasik dapat menimbulkan radang kronis dan cedera jaringan. Aktivasi makrofag secara alternatif dapat mengatasi peradangan dan memfasilitasi penyembuhan luka.

Aktivasi makrofag klasik diinduksi oleh IFN- γ dan IFN- γ R. *lipopolysaccharide* (LPS) dari bakteri terikat CD14 pada membran makrofag. Kompleks LPS dikirim ke lisosom kemudian mengalami degradasi oleh enzim protease. Produk degradasi tersebut dipresentasikan ke molekul MHC kelas II sebagai suatu antigen dan disajikan ke limfosit T. Peristiwa tersebut diikuti oleh perubahan morfologi dan perubahan sekretoris. Makrofag yang diaktivasi secara klasik ini melepaskan berbagai kemokin termasuk IL-8, IP-10, MIP-1, yang dirilis sebagai kemoatraktan untuk neutrofil, sel dendritik, sel *natural killer* (NK), dan sel T. Beberapa sitokin pro inflamasi juga dilepaskan oleh makrofag, termasuk IL-1, IL-6, dan TNF- α yang berperan terhadap aktivitas pro apoptosis. Makrofag tersebut juga melepaskan *matrix metallo proteinases* (MMP) yang mendegradasi komponen ECM.

Makrofag diaktifkan secara alternatif oleh IL-4 dan IL-13. Pengikatan sitokin tersebut dengan reseptor diikuti oleh fase pinositosis dari antigen yang terlarut. Antigen ini kemudian dimuat ke molekul MHC kelas II kemudian ditampilkan ke sel T. Kemokin yang dikeluarkan oleh makrofag yang diaktifkan secara alternatif berfungsi merangsang proliferasi sel, seperti PDGF, IGF, dan TGF- β , EGF, FGF, TGF- α dan VEGF. Molekul yang disekresi oleh makrofag yang diaktifkan secara alternatif bekerja ke arah penyelesaian peradangan dan perbaikan jaringan luka, fibrosis, proliferasi, dan angiogenesis.

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

2.8.4 Makrofag dan Proses Penyembuhan Luka

Makrofag berperan penting untuk penyembuhan luka. Makrofag menggantikan netrofil sebagai sel dominan pada luka dalam waktu dua hari setelah cedera. Monosit tertarik dari sirkulasi ke situs luka oleh faktor pertumbuhan dan sitokin yang dikeluarkan oleh platelet dan sel lain (Lorenz & Longaker, 2008). Jumlah monosit di puncak luka satu sampai satu setengah hari setelah luka terjadi. Monosit berubah menjadi makrofag begitu berada di situs luka. Limpa mengandung cadangan monosit separuh dari seluruh monosit dalam tubuh yang siap digunakan untuk jaringan yang terluka (Swirski *et al*, 2009).

Makrofag berperan untuk mengfagositir bakteri dan jaringan yang rusak dan melisis debris dengan melepaskan protease. Makrofag juga mengeluarkan sejumlah faktor seperti faktor pertumbuhan dan sitokin lain, terutama pada hari ketiga dan keempat setelah terjadi luka. Faktor-faktor tersebut menarik sel-sel yang terlibat dalam proses penyembuhan ke daerah luka. Makrofag dirangsang dengan kandungan oksigen yang rendah untuk menghasilkan faktor-faktor yang mendorong dan mempercepat angiogenesis. Makrofag juga merangsang sel yang berperan dalam re-epitelialisasi, jaringan granulasi, dan matriks ekstraselular baru.

2.9 Mencit

Mencit termasuk dalam genus *Mus*, *subfamily Murinae*, *family Muridae*, *order Rodentia*. Mencit yang paling sering dipakai untuk penelitian biomedis adalah *Mus musculus*.

2.9.1 Sifat Biologi Mencit

Berat badan mencit jantan berkisar antara 18–35 gram. Mencit dapat hidup antara 1–3 tahun. Mencit dikategorikan dewasa jika berumur lebih dari 90 hari. Kebutuhan makan mencit sebanyak 4–5 gram per hari dan kebutuhan minum secara *ad libitum*. Suhu tubuh mencit sekitar 36,5°C. Tekanan darah sistolik berkisar antara 133–160 mmHg dan diastolik berkisar antara 102–110 mmHg. Frekwensi pernafasan sebanyak 163 kali per menit (Kusumawati, 2004).

2.9.2 Pemeliharaan Mencit

Pendekatan pada hewan coba perlu dilakukan dengan perlahan dan percaya diri. Pemeliharaan dan perlakuan yang keliru dapat menyebabkan hewan coba mengalami stres. Kandang untuk hewan coba harus diperhatikan. Ukuran panjang dan lebar kandang sebaiknya lebih panjang dari panjang tubuh hewan coba termasuk ekornya. Pengisian kandang seharusnya tidak lebih dari 20 ekor hewan coba yang kecil. Suasana di dalam kandang sebaiknya sesuai dengan lingkungan alam dan karakter binatangnya. Lokasi kandang hendaknya tidak mengganggu lingkungan masyarakat sekitar. Kandang harus memiliki ventilasi yang baik sehingga suhu dan kelembabannya sesuai dengan kehidupan hewan (Kusumawati, 2004).

Mencit selalu berusaha menggigit bila dikendalikan, sehingga perlu didekati dengan hati-hati. Mencit ditangkap pada ekornya kemudian ditempatkan di bahan yang kasar. Tenguk mencit dipegang dengan ibu jari dan telunjuk sedang ekornya dipegang dengan jari ketiga dan keempat.

Kebutuhan nutrisi standar yang dibutuhkan oleh mencit adalah protein sebanyak 20–25%, lemak sebanyak 5–12%, serat kasar sebanyak 2,5%, dan karbohidrat sebanyak 45–60% (Fox, 1984).

2.9.3 Teknik Perlakuan pada Mencit

Identifikasi pada mencit dapat menggunakan pewarna/tinta di daerah tertentu seperti ekor, kaki, dan kepala. Perlakuan pada hewan coba dengan pemberian bahan tertentu, harus diupayakan sebaik mungkin agar tidak menimbulkan stres dan nyeri pada hewan coba. Pemberian bahan secara injeksi intramuskular dapat dilakukan di daerah kaki belakang pada otot kuadrisep dan trisep. Rasa sakit akibat penyuntikan dapat dihindari dengan cara menyuntik perlahan dengan volume bahan yang tidak terlalu banyak.

Metode anestesi pada mencit ada tiga macam, yaitu metode fisik, metode parenteral, dan metode inhalasi. Metode fisik dengan cara membuat mencit dalam kondisi hipotermia, yaitu mencit ditempatkan pada tabung uji yang ditempelkan di dinding ruang pendingin *plexiglass* yang dibatasi dengan *fiberglass* dan diisi dengan *dry ice*. Metode parenteral dilakukan dengan memberikan obat anestesi secara intravena atau intramuskular. Obat yang dipakai yaitu sodium pentobarbital, sodium tiopental, klorpromazin HCl, dan ketamin HCl. Pemberian ketamin HCl secara intramuskular dengan dosis 50-400 mg/kg. Masa pemulihan terjadi dalam waktu 15–30 menit. Metode inhalasi menggunakan karbodioksida, kloroform, eter, halotan, dan metoksifluran (Kusumawati, 2004).

2.9.4 Euthanasia pada Mencit

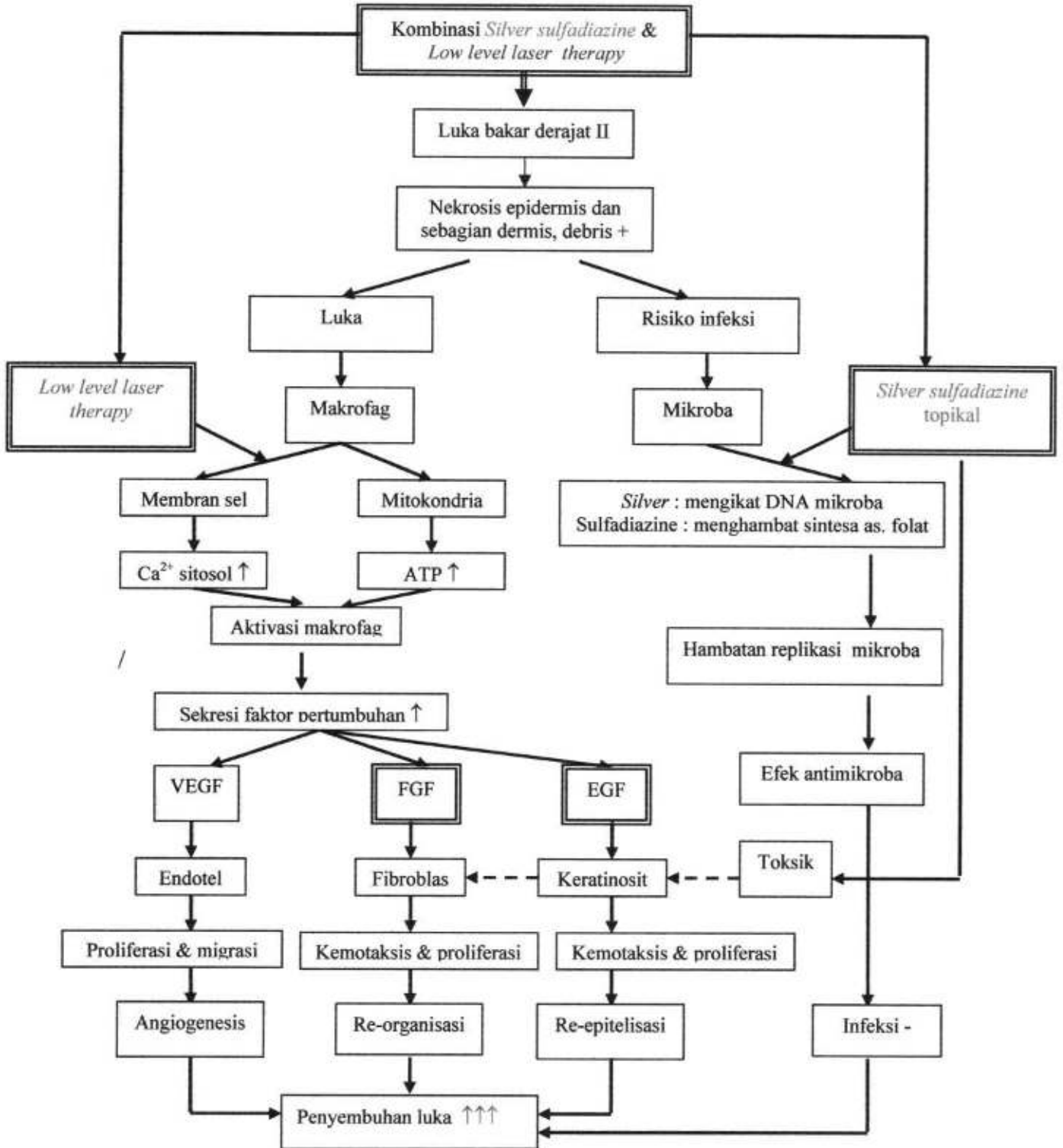
Euthanasia pada mencit sebaiknya mengikuti syarat sebagai berikut yaitu : tidak menimbulkan gejala yang tidak menyenangkan bagi hewan coba; aman

untuk peneliti dan pembantu peneliti; mudah dilakukan; sesuai dengan umur, spesies, kesehatan dan jumlah hewan; tidak menimbulkan polusi; ireversibel; dan tidak menimbulkan perubahan kimiawi dan histopatologi jaringan.

Euthanasia harus dilaksanakan oleh orang yang terlatih dengan ketentuan institusi dan undang-undang yang diberlakukan di suatu negara. Pilihan metode tergantung spesies hewan dan untuk apa hewan digunakan. Metode euthanasia ada 3 jenis yaitu metode fisik, metode inhalasi, dan metode parenteral. Metode fisik meliputi dislokasi servikal dan dekapitasi. Metode inhalasi menggunakan obat anestesi seperti karbondioksida, eter, halotan, dan metoksifluran (Kusumawati, 2004). Pada penelitian ini euthanasia hewan coba menggunakan metode inhalasi dengan eter.

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN




3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 : Kerangka konsep pengaruh *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal terhadap penyembuhan luka bakar

Keterangan gambar 3.1:

1. Arti symbol

 : menyebabkan  : diberikan  : menghambat



: tidak diteliti dalam penelitian ini



: diteliti dalam penelitian ini

2. Variabel penelitian :

a. Variabel bebas : *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal

b. Variabel tergantung : makrofag penghasil EGF dan FGF

3. VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*

EGF : *Epidermal Growth Factor*

FGF : *Fibroblast Growth Factor*

Pasien luka bakar dihadapkan dengan kondisi adanya lesi dan risiko terjadinya infeksi pada lesi. *Silver sulfadiazine* sebagai antimikroba standar pada luka bakar. *Silver sulfadiazine* diberikan secara topikal pada lesi untuk mencegah dan mengatasi infeksi mikroba. Penanganan terhadap infeksi akan mendukung kondisi luka untuk terjadinya penyembuhan luka. Komponen *silver* selain bersifat toksik terhadap bakteri juga toksik terhadap sel host terutama fibroblas dan keratinosit (Fuller, 2009). Fibroblas dan keratinosit merupakan sel yang berperan dalam proses penyembuhan luka. Kerusakan fibroblas dan keratinosit akan membuat penyembuhan luka terganggu atau kualitas jaringan yang dihasilkan tidak baik.

Penyinaran *low level laser* akan mengaktifkan makrofag melalui rangsangan pada membran sel dan mitokondria. Perangsangan pada membran sel menyebabkan peningkatan potensial membran sel terhadap ion kalsium meningkat, yang diikuti peningkatan influks ion kalsium sehingga konsentrasi kalsium sitosol meningkat. Perangsangan pada mitokondria meningkatkan proses respirasi sehingga meningkatkan produksi ATP. Peningkatan kalsium sitosol dan ATP dapat mengaktifkan makrofag melalui sinyal transduksi. Makrofag teraktivasi akan melepaskan sitokin dan faktor pertumbuhan yang berperan dalam proses inflamasi maupun perbaikan jaringan. Faktor pertumbuhan yang berperan dalam penyembuhan luka antara lain adalah : EGF yang berfungsi merangsang motilitas dan proliferasi keratinosit; FGF yang berfungsi untuk merangsang angiogenesis dan proliferasi fibroblas; dan VEGF yang berfungsi merangsang angiogenesis dan meningkatkan permeabilitas vaskular (Tsirogianni *et al*, 2006).

Penelitian ini difokuskan meneliti sekresi EGF dan FGF oleh makrofag karena kedua faktor pertumbuhan tersebut berfungsi dapat merangsang fibroblas dan keratinosit, sel yang rentan rusak akibat paparan dengan *silver sulfadiazine*. Perangsangan terhadap 2 sel tersebut dapat menginduksi proses penyembuhan lesi. Kombinasi *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal diharapkan dapat mencapai tujuan dari penanganan lesi luka bakar, yaitu penanganan infeksi dan penyembuhan luka yang optimal.

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah :

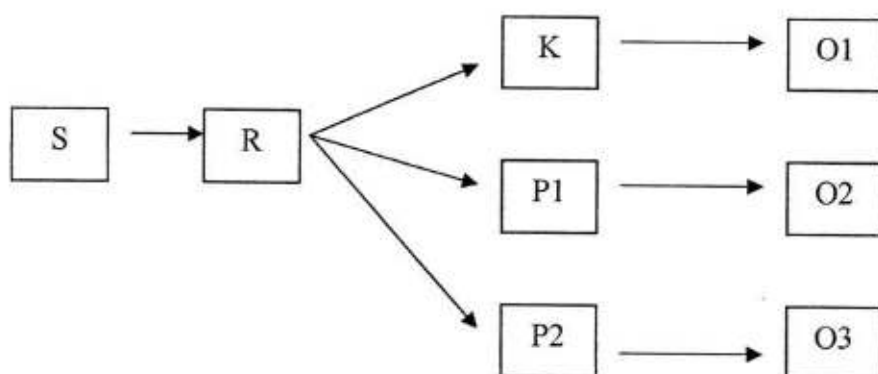
1. Jumlah makrofag penghasil EGF pada proses penyembuhan luka bakar derajat II yang diberikan kombinasi *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal lebih banyak daripada jumlah makrofag penghasil EGF pada proses penyembuhan luka bakar derajat II yang diberikan *silver sulfadiazine* topikal saja.
2. Jumlah makrofag penghasil FGF pada proses penyembuhan luka bakar derajat II yang diberikan kombinasi *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal lebih banyak daripada jumlah makrofag penghasil FGF pada proses penyembuhan luka bakar derajat II yang diberikan *silver sulfadiazine* topikal saja.

BAB 4

MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Desain dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni laboratoris dengan menggunakan rancangan postes dengan kelompok kontrol (*postest only control group design*) (Notoatmojo, 2003).



Gambar 4.1 Pembagian kelompok perlakuan

Keterangan

- S : Unit eksperimen
 R : Randomisasi unit eksperimen
 K : Kelompok kontrol dengan luka bakar derajat II yang diirigasi larutan NaCl 0,9%
 P1 : Kelompok perlakuan 1 dengan luka bakar derajat II yang diirigasi larutan NaCl 0,9%, diberikan *silver sulfadiazine* 1% topikal
 P2 : Kelompok perlakuan 2 dengan luka bakar derajat II yang diirigasi larutan NaCl 0,9%, diberikan *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* 1% topikal
 O : Observasi

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Rumah Sakit dr Soetomo Surabaya, dan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya selama 6 bulan sejak bulan Desember 2009 sampai bulan Mei 2010.

Persiapan dan penyusunan proposal dilakukan di Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Pemeliharaan dan perlakuan pada hewan coba dilakukan di Unit Hewan Coba Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Pembuatan preparat dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit dr Soetomo. Pengecatan imunohistokimia EGF di Laboratorium Gramik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Pengecatan imunohistokimia FGF di Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pengamatan mikroskopis dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit dr Soetomo dan Unit Mikroskop Elektron Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

4.3 Unit Eksperimen

Unit eksperimen pada penelitian ini adalah mencit jantan (*Mus musculus*) galur BALB/c umur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram dan dalam keadaan sehat. Kesehatan hewan coba dapat diamati dari gerakan cukup lincah, tidak lesu, kulit bersih dan tanpa luka, mata terang dan tidak sayu (Kusumawati, 2004).

4.4 Besar Replikasi

Besar replikasi per kelompok adalah 8 ekor, terdapat 3 kelompok sehingga unit eksperimen yang dibutuhkan adalah 24 ekor. Besar replikasi per kelompok didapat dengan menggunakan rumus Federer sebagai berikut (Federer, 1955) :

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

$$(r-1)(3-1) \geq 15$$

$$r \geq 8$$

Keterangan rumus:

r = besar replikasi tiap kelompok

t = jumlah perlakuan

4.5 Variabel Penelitian

Penelitian ini untuk mempelajari pengaruh *low level laser therapy* terhadap makrofag penghasil EGF dan makrofag penghasil FGF pada proses penyembuhan luka bakar derajat II yang diberikan *silver sulfadiazine* topikal.

Variabel penelitian adalah sebagai berikut :

4.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas (*predictor variable*) pada penelitian ini adalah *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal 1%

4.5.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung (*outcome variable*) pada penelitian ini adalah makrofag penghasil EGF dan makrofag penghasil FGF.

4.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah lokasi luka bakar, derajat luka bakar, dosis terapi laser, cara pemberian terapi laser, konsentrasi *silver sulfadiazine*, dan cara pemberian *silver sulfadiazine*.

4.6 Definisi Operasional Variabel

4.6.1 *Low level laser therapy*

Low level laser therapy adalah penyinaran pada lesi luka bakar dengan laser semikonduktor AlGaInP (Kaxing GX-1000) dengan energi 4 J/cm², panjang gelombang 680 nm dan daya 5,56 mWatt selama 60 detik 1 kali sehari selama 3 hari.

4.6.2 *Silver sulfadiazine* topikal

Silver sulfadiazine topikal adalah salep *silver sulfadiazine* 1% (Burnazin[®], Darya Varia) yang dioleskan pada lesi luka bakar dengan ketebalan 2-3 mm kemudian ditutup kasa steril dan dibalut dengan plester (Ultrafix[®], Onemed). Pengolesan salep dan penggantian kasa dilakukan 1 kali sehari selama 3 hari.

4.6.4 Makrofag penghasil EGF

Makrofag penghasil EGF adalah makrofag yang memberikan reaksi + terhadap antibodi monoklonal anti-mouse EGF-10 (sc-57088, Santa Cruz Biotechnology) dengan teknik imunohistokimia. Pengamatan dilakukan secara visual dengan memakai mikroskop cahaya pembesaran 400X. Warna coklat pada membran dan sitoplasma makrofag menunjukkan ekspresi EGF. Perhitungan dilakukan secara semi kuantitatif dalam sepuluh lapang pandang menggunakan *graticulae*. Makrofag dihitung dan diklasifikasikan sebagai sel P (+) jika berwarna coklat dan sel N (-) jika berwarna biru. Jumlah makrofag penghasil EGF adalah prosentase sel P terhadap total sel (sel P + sel N) per 10 lapang pandang.

4.6.4 Makrofag penghasil FGF

Makrofag penghasil FGF adalah makrofag yang memberikan reaksi + terhadap antibodi monoklonal anti-mouse FGF-1 (sc-55520, Santa Cruz Biotechnology) dengan teknik imunohistokimia. Pengamatan dilakukan secara visual dengan memakai mikroskop cahaya pembesaran 400X. Warna coklat pada membran dan sitoplasma makrofag menunjukkan ekspresi FGF. Perhitungan dilakukan secara semi kuantitatif dalam sepuluh lapang pandang menggunakan *graticulae*. Makrofag diklasifikasikan sebagai sel P (+) jika berwarna coklat dan

sel N (-) jika berwarna biru. Jumlah makrofag penghasil FGF adalah prosentase sel P terhadap total sel (sel P + sel N) per 10 lapang pandang.

4.7 Bahan dan Alat Penelitian

4.7.1 Hewan coba dan perawatan

Bahan dan alat yang diperlukan adalah mencit (*Mus musculus*) galur BALB/c jantan umur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram dan sehat, kandang hewan coba, alat makan minum, timbangan hewan, makanan (pelet CP 593), minuman (larutan aquadest), dan sekam.

4.7.2 Perlakuan

Bahan dan alat yang diperlukan adalah laser semikonduktor AlGaInP (Kaxing GX-1000), salep *silver sulfadiazine* 1% (Burnazin[®], Darya Varia), larutan fisiologis NaCl 0,9%, ketamin hidroklorit (Ketalar[®], Pfirzer), *disposable spuit*, pisau shaver, povidone iodine, paku besi besar (lempeng besi), kasa steril, plester (Ultrafix[®], Onemed), eter, pinset dan *scalpel*, dan gunting.

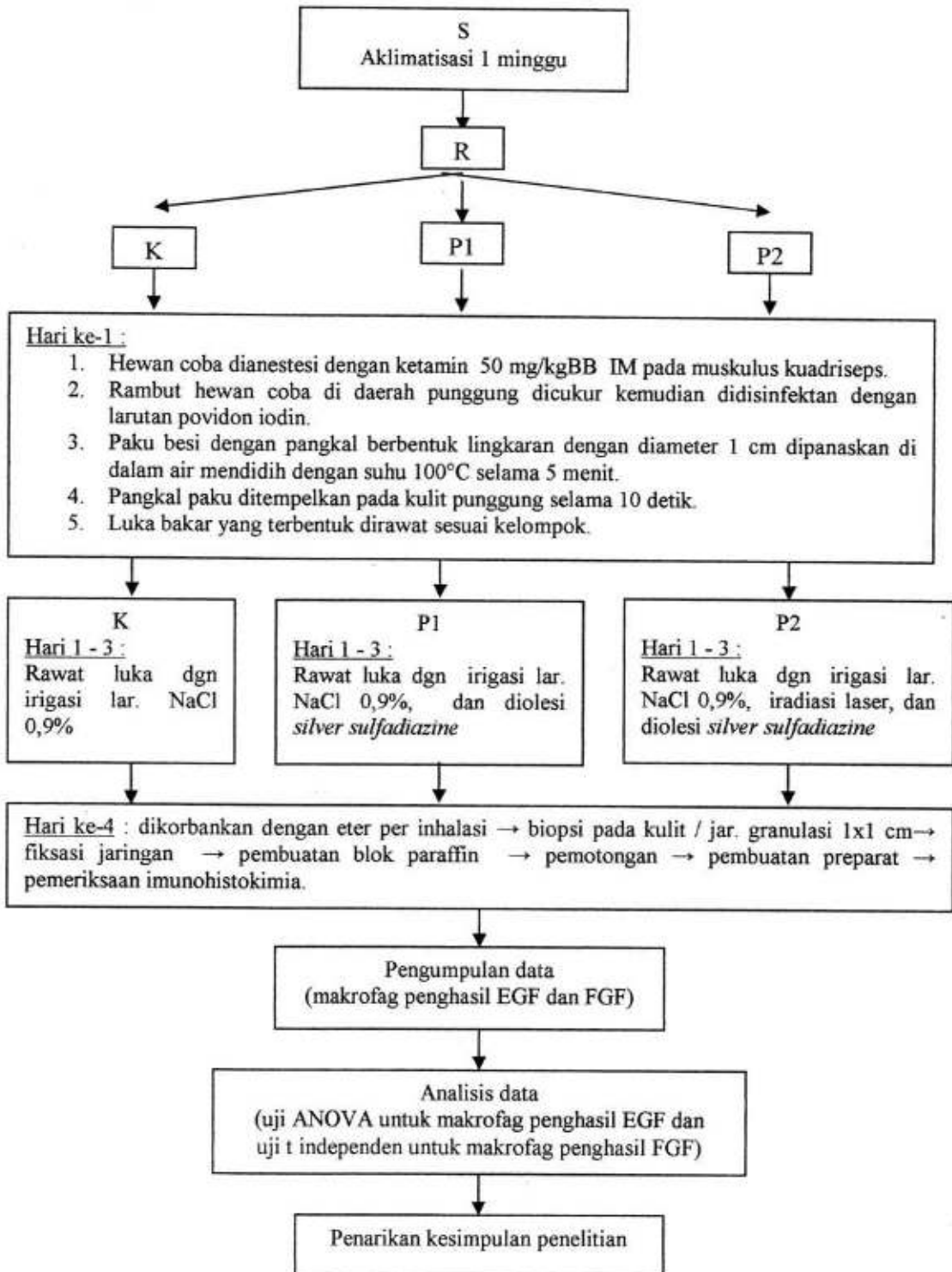
4.7.3 Pemeriksaan patologi dan imunohistokimia

Bahan dan alat yang diperlukan adalah pot jaringan, formalin 10% buffer, alkohol (50%, 70%, 90%, 95%), alkohol absolut, granuler parafin, gliserin, alat cetak blok parafin, *slide poly L-lysine*, entelen, xylol, H₂O₂, FBS, PBS, antibodi FGF, antibodi EGF, *IgG biotin anti mouse*, Mayer hematoksilin, eosin, *object glass*, *cover glass*, mikroskop cahaya, *graticulae*, *microtome*, *water bath*, *holder staining glass*, *staining jar*, *hot plate*, *microwave*, kipas angin, *microwave jar*, *magnetic immunostaining tray*, *micropipette*, *timer*, *citrat buffer*, *tris buffer*, *ultra value block*, *antibody enhancer*, HRP polymer, DAB chromogen, aquadest.

4.7.4 Pengumpulan data, analisa data, dan penyusunan laporan

Bahan dan alat yang diperlukan adalah alat tulis, komputer, dan printer.

4.8. Prosedur penelitian



Gambar 4.2 Prosedur kerja penelitian

Keterangan gambar 4.2

- S : Unit eksperimen
R : Randomisasi unit eksperimen
K : Kelompok kontrol dengan luka bakar derajat II yang diirigasi larutan NaCl 0,9%
P1 : Kelompok perlakuan 1 dengan luka bakar derajat II yang diirigasi larutan NaCl 0,9% dan pemberian *silver sulfadiazine* 1% topikal
P2 : Kelompok perlakuan dengan luka bakar derajat II yang diirigasi larutan NaCl 0,9% , penyinaran dengan *low level laser*, dan pemberian *silver sulfadiazine* 1% topikal
O : Observasi

4.8.1 Aklimatisasi

Setiap hewan coba dilakukan aklimatisasi selama 7 hari agar terbiasa hidup di lingkungan yang baru sebelum diberi perlakuan.

4.8.2 Pembagian kelompok penelitian

Sebanyak 24 hewan coba dilakukan randomisasi menjadi 3 kelompok. Randomisasi dilakukan dengan memberi nomer pada hewan coba dan dilakukan pengundian nomer. Tiap kelompok ditempatkan di kandang yang berbeda dan diberi makan pelet CP 593 10 gram/ekor/hari dan minum aquadest 1 liter/10 ekor/3 hari secara *ad libitum*. Sekam pada kandang diganti tiap 2 hari.

4.8.3 Pembuatan luka bakar derajat II

Hewan coba dianestesi dengan injeksi intramuskular 50 mg/kgBB ketamin hidroklorit pada muskulus kuadriseps pada hari ke-1. Hewan coba dilakukan pencukuran rambut di daerah punggung dan kulit didisinfeksi dengan larutan povidon iodin. Paku besi dengan pangkal berbentuk lingkaran dengan diameter 1 cm dipanaskan di dalam air mendidih selama 5 menit. Paku diambil dengan pinset dan ditempelkan pada kulit punggung hewan coba selama 10 detik. Hewan

coba ditempatkan di 3 kandang yang berbeda sesuai kelompok setelah terbentuk luka bakar.

4.8.4 Perlakuan pada lesi luka bakar

Setiap hewan coba diberikan perlakuan sesuai kelompok. Kelompok K dilakukan irigasi luka dengan larutan NaCl 0,9% kemudian ditutup dengan kasa steril dan dibalut dengan plester. Kelompok P1 dilakukan irigasi luka dengan larutan NaCl 0,9% kemudian diolesi salep *silver sulfadiazine* 1% dengan ketebalan 2-3 mm dan ditutup dengan kasa steril serta dibalut dengan plester. Kelompok P2 dilakukan irigasi luka dengan larutan NaCl 0,9% kemudian disinari dengan laser semikonduktor AlGaInP dengan energi 4 J/cm^2 , panjang gelombang 680 nm dan daya 5,56 mWatt selama 60 detik, setelah itu diolesi salep *silver sulfadiazine* 1% dengan ketebalan 2-3 mm dan ditutup dengan kasa steril serta dibalut dengan plester. Perlakuan dilakukan satu kali setiap hari selama 3 hari.

4.8.5 Pembuatan preparat patologi dan imunohistokimia

Semua hewan coba dikorbankan dengan eter per inhalasi pada hari ke-4. Jaringan granulasi yang terbentuk dibiopsi dengan ukuran 1x1 cm. Jaringan yang diperoleh difiksasi dalam larutan formalin buffer selama kurang lebih 24 jam dalam pot jaringan yang diberi label. Jaringan kemudian dibuat blok parafin, disayat setebal 4 mikron dengan mikrotom, dan dibuat preparat patologi untuk selanjutnya dilakukan pengecatan *Hematoxyllin Eosin* (HE) dan imunohistokimia. Teknik pembuatan preparat, pengecatan HE, dan pengecatan imunohistokimia seperti pada lampiran 4, 5, dan 6.

4.8.6 Pengumpulan data

Pengamatan mikroskopis dengan pengecatan HE menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 100x untuk melihat gambaran histologi jaringan kulit yang mengalami luka bakar derajat II dan pembesaran 400x untuk mengidentifikasi makrofag dan memastikan preparat tersebut layak atau tidak untuk dianalisis dengan teknik imunohistokimia.

Pengamatan makrofag penghasil EGF dan makrofag penghasil FGF menggunakan teknik imunohistokimia. Pengamatan dilakukan secara visual dengan memakai mikroskop cahaya pembesaran 400X. Perhitungan makrofag dilakukan secara semi kuantitatif dalam 10 lapang pandang dengan menggunakan *graticulae*.

Semua sel makrofag dalam 10 lapang pandang dihitung dengan *graticulae*. Sel yang berwarna coklat dihitung dan diklasifikasikan sebagai sel P (positif). Sel yang berwarna kebiruan dihitung dan diklasifikasikan sebagai sel N (negatif). Jumlah makrofag penghasil EGF/FGF adalah prosentase sel P terhadap total sel (sel P + sel N) per 10 lapang pandang.

4.9 Analisis Data

Data hasil penelitian ditabulasi dan dianalisis dengan statistik deskriptif untuk mengetahui gambaran karakteristik variabel, uji homogenitas untuk mengetahui variansi antara kelompok, uji normalitas distribusi untuk mengetahui data yang diperoleh berasal dari populasi yang normal. Data variabel makrofag penghasil EGF berdistribusi normal dan variansi antar kelompok homogen, sehingga untuk menguji efek dari perlakuan dapat menggunakan uji analisis

variansi (ANOVA) satu arah dan untuk mengetahui apakah ada perbedaan antar kelompok perlakuan, maka analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji LSD (*Least Significant Difference*). Data variabel makrofag penghasil FGF berdistribusi normal dan variansi antar kelompok tidak homogen, sehingga untuk menguji efek perlakuan dan perbedaan antar kelompok perlakuan dapat menggunakan uji T independen (*independent T test*). Semua data tersebut diolah menggunakan program SPSS dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha < 0.05$) (Sujana, 1995).

BAB 5

HASIL PENELITIAN

Data baku hasil penelitian eksperimental proses penyembuhan luka bakar derajat II yang dilakukan pada binatang coba selama 4 hari dikumpulkan sesuai dengan tujuan dan hipotesis penelitian yang telah dibuat. Data ini merupakan hasil penghitungan rerata makrofag penghasil FGF dan makrofag penghasil EGF dalam 10 lapang pandang mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x, yang dihitung menggunakan *ocular micrometer (graticulae)* yang mempunyai ketelitian sampai 0,01 mm. Data baku ini kemudian ditabulasi dan dianalisis dengan bantuan komputer.

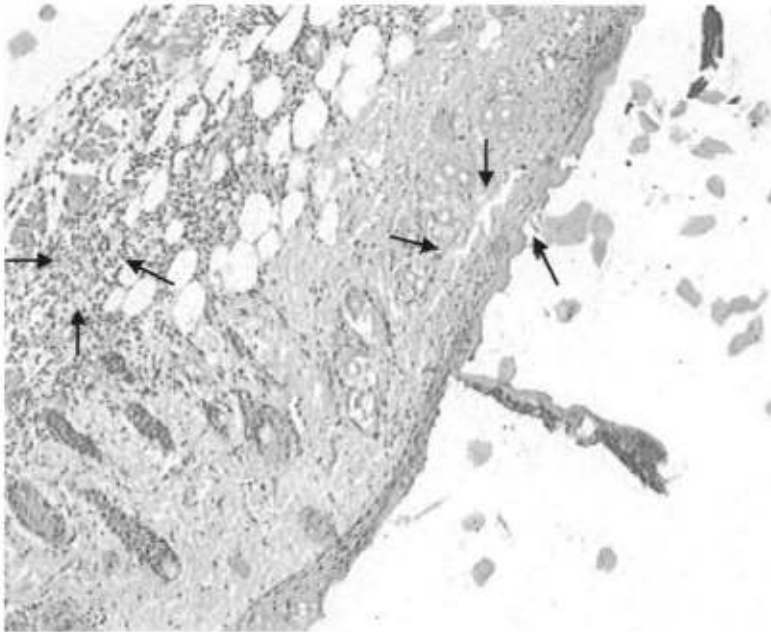
5.1 Data Penelitian

Sebanyak 24 hewan coba dikelompokkan secara acak (*random sampling*) menjadi 3 kelompok yaitu :

1. Kelompok kontrol K : kelompok hewan coba dengan luka bakar derajat II yang diirigasi dengan larutan NaCl 0,9%.
2. Kelompok perlakuan P1: kelompok hewan coba dengan luka bakar derajat II yang diirigasi dengan larutan NaCl 0,9% kemudian diberikan *silver sulfadiazine* 1% (SSD) topikal.
3. Kelompok perlakuan P2 : kelompok hewan coba dengan luka bakar derajat II yang diirigasi dengan larutan NaCl 0,9%, iradiasi *low level laser therapy* (LLLT) dan diberikan *silver sulfadiazine* 1% (SSD) topikal.

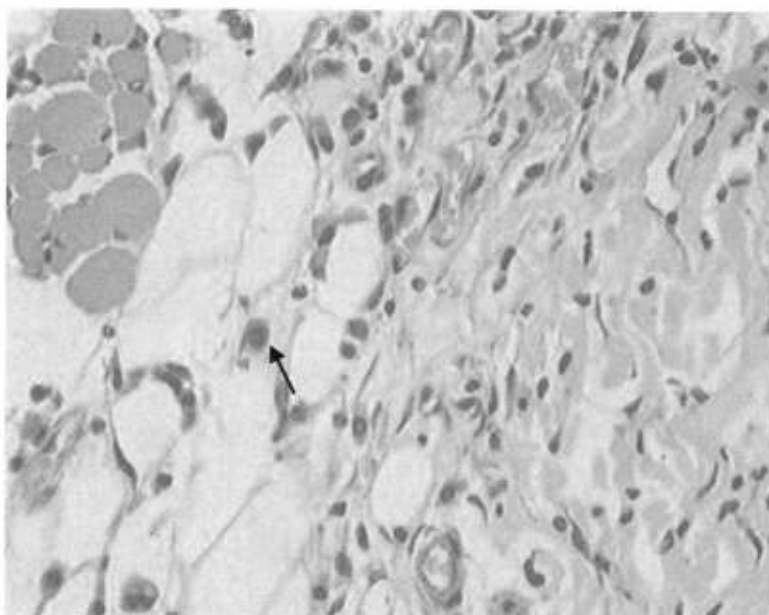
Semua hewan coba dilakukan penimbangan berat badan sebelum perlakuan diberikan dengan menggunakan timbangan *torsion balance*. Perlakuan dilakukan selama 4 hari.

Area kulit dengan luka bakar dibiopsi dengan ukuran 1 x 1 cm pada hari ke-4 perlakuan. Jaringan yang didapat difiksasi dengan formalin buffer kemudian dilakukan pembuatan blok parafin. Blok parafin disayat dengan mikrotom untuk pembuatan preparat histopatologi dengan pewarnaan HE. Preparat HE diamati dengan mikroskop cahaya pembesaran 100x untuk melihat gambaran histologi jaringan kulit dengan luka bakar derajat II.



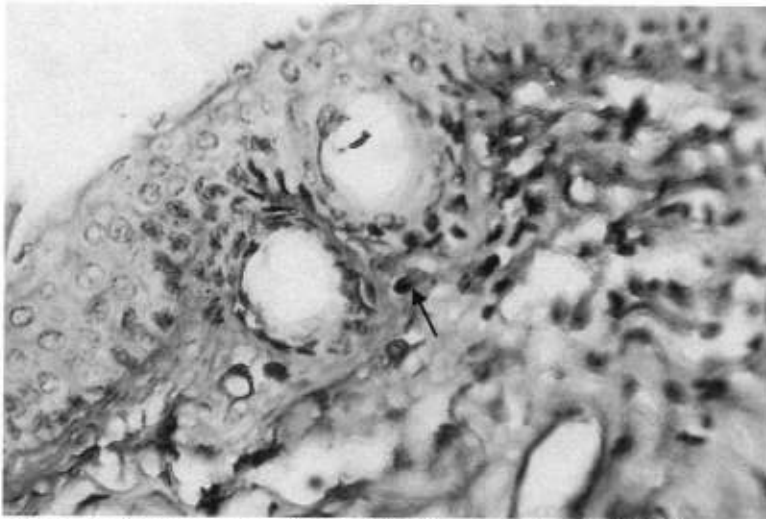
Gambar 5.1 Gambaran histopatologi kulit dengan luka bakar derajat II (pewarnaan HE, pembesaran 100x). Ujung panah menunjukkan epitel nekrosis dan akumulasi sel radang pada dermis (gambar diambil dari preparat K4).

Pengamatan preparat HE dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x untuk mengidentifikasi makrofag dan memastikan preparat tersebut layak atau tidak untuk dianalisis dengan teknik imunohistokimia.

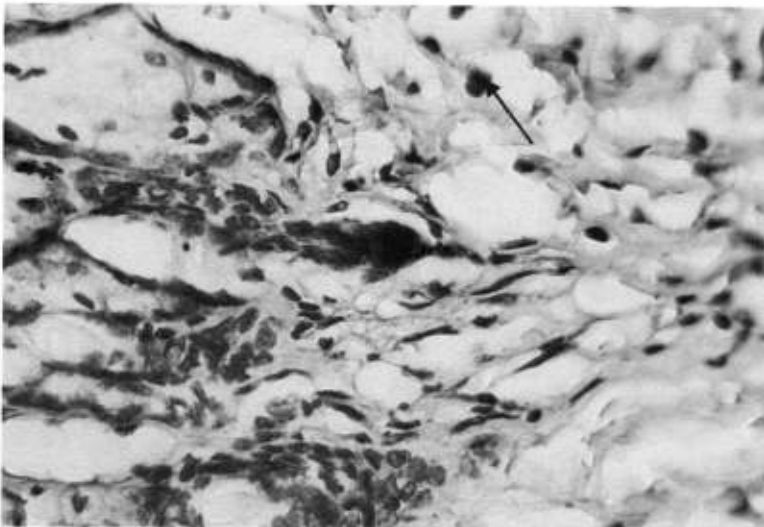


Gambar 5.2 Gambaran histopatologi kulit dengan luka bakar derajat II (pewarnaan HE, pembesaran 400x). Ujung panah menunjukkan sel makrofag (gambar diambil dari preparat K4).

Pengamatan makrofag penghasil FGF dan EGF dilakukan dengan teknik imunohistokimia. Preparat imunohistokimia diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x dalam 10 lapang pandang. Semua makrofag dalam 10 lapang pandang dihitung dengan *graticulae* dan diklasifikasikan menjadi sel P (+) jika sitoplasma dan membran berwarna coklat dan sel N (-) jika sitoplasma jernih dan membran berwarna kebiruan. Jumlah makrofag penghasil FGF/EGF adalah prosentase sel P terhadap total sel (sel P + sel N) per 10 lapang pandang.



Gambar 5.3 Pengamatan makrofag penghasil EGF (imunohistokimia, mikroskop cahaya pembesaran 400x). Ujung panah menunjukkan makrofag yang memberikan reaksi positif terhadap antibodi monoklonal EGF (gambar diambil dari preparat K3).



Gambar 5.4 Pengamatan makrofag penghasil FGF (imunohistokimia, mikroskop cahaya pembesaran 400x). Ujung panah menunjukkan makrofag yang memberikan reaksi positif terhadap antibodi monoklonal FGF (gambar diambil dari preparat K7).

5.2 Analisis Data dan Hasil Penelitian

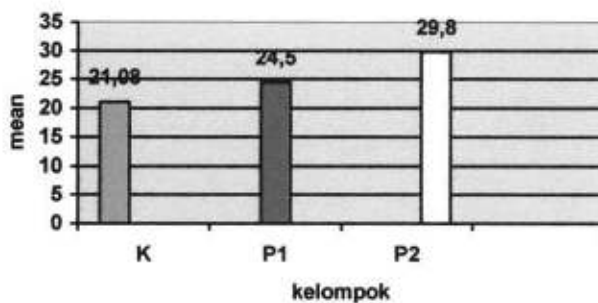
Data hasil penelitian selanjutnya dianalisis secara deskriptif yang bertujuan untuk memperoleh gambaran yang lebih jelas mengenai distribusi dan simpangan baku dari tiap variabel penelitian. Statistik deskriptif menunjukkan

rerata dan simpangan baku data nilai makrofag penghasil FGF untuk kelompok kontrol adalah $21,08 \pm 5,56$ sel/10 lapang pandang, kelompok perlakuan 1 (SSD) adalah $24,50 \pm 5,13$ sel/10 lapang pandang, dan kelompok perlakuan 2 (LLLT + SSD) adalah $29,80 \pm 2,26$ sel/10 lapang pandang. Data deskripsi makrofag penghasil FGF sebagai berikut (lampiran 14).

Tabel 5.2 Data deskriptif makrofag penghasil FGF per 10 lapang pandang

Kelompok	N	Makrofag penghasil FGF (sel/10 lapang pandang)			
		\bar{x}	SD	Min	Maks
K	8	21,08 ^a	5,56	13,13	28,11
P1	8	24,50 ^a	5,13	15,75	29,16
P2	8	29,80 ^b	2,26	27,90	34,38

Keterangan : ^a : tidak bermakna, ^b : bermakna



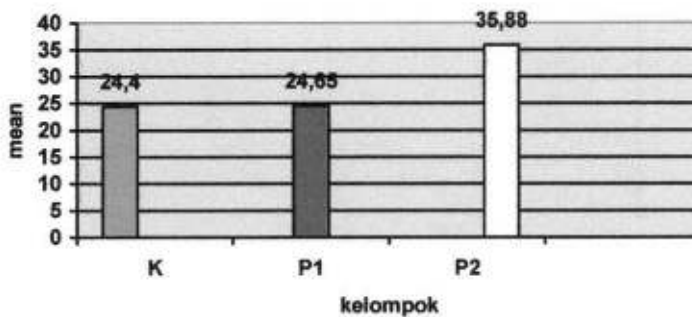
Gambar 5.5 Diagram batang distribusi rerata makrofag penghasil FGF per 10 lapang pandang.

Hasil analisis deskriptif rerata dan simpangan baku data nilai makrofag penghasil EGF untuk kelompok kontrol adalah $22,40 \pm 2,29$ sel/10 lapang pandang, kelompok perlakuan 1 (SSD) adalah $24,65 \pm 2,83$ sel/10 lapang pandang, dan kelompok perlakuan 2 (LLLT + SSD) adalah $35,88 \pm 2,97$ sel/10 lapang pandang. Data deskriptif makrofag penghasil EGF sebagai berikut (lampiran 14).

Tabel 5.3 Data deskriptif makrofag penghasil EGF per 10 lapang pandang

Kelompok	N	Makrofag penghasil EGF (sel/10 lapang pandang)			
		\bar{x}	SD	Min	Maks
K	8	24,40 ^a	2,29	21,78	28,77
P1	8	24,65 ^a	2,83	19,64	28,01
P2	8	35,88 ^b	2,97	29,79	39,00

Keterangan : ^a : tidak bermakna, ^b : bermakna



Gambar 5.6 Diagram batang rerata makrofag penghasil EGF per 10 lapang pandang

5.2.1 Hasil Uji Normalitas

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data yang akan dianalisis berdistribusi normal atau tidak, karena pengujian dengan menggunakan statistik parametrik mensyaratkan data harus berdistribusi normal. Uji normalitas terhadap rerata makrofag penghasil FGF dan makrofag penghasil EGF dilakukan dengan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov test* yang menghasilkan data seperti tampak pada tabel berikut (lampiran 13).

Tabel 5.4 Tingkat signifikansi (p) uji normalitas makrofag penghasil FGF dan makrofag penghasil EGF

Kelompok	makrofag penghasil FGF (p)	makrofag penghasil EGF (p)
K	0,899	0,946
P1	0,478	0,806
P2	0,654	0,873

Hasil *Kolmogorov-Smirnov test* seperti tercantum pada tabel menunjukkan bahwa jumlah makrofag pehasil FGF dan makrofag penghasil EGF dari tiap kelompok yang diuji berdistribusi normal. Hal ini terlihat dari besarnya nilai p dari tiap kelompok $> 0,05$.

5.2.2 Hasil Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan untuk mengevaluasi variansi sampel. Varian sampel harus sama untuk melakukan analisis dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) atau uji F. Uji homogenitas dilakukan dengan alat uji Levene's yang berpedoman kepada nilai signifikansi atau nilai probabilitas (p). Nilai $p < 0,05$ menunjukkan varian sampel antar kelompok tersebut tidak homogen dan nilai $p > 0,05$ menunjukkan varian sampel antar kelompok tersebut homogen. Berikut hasil uji Levene's dari makrofag penghasil EGF dan makrofag penghasil FGF (lampiran 15).

Tabel 5.5 Tingkat signifikansi (p) uji homogenitas makrofag penghasil FGF dan makrofag penghasil EGF

Variabel	P
Makrofag penghasil FGF	0,017
Makrofag penghasil EGF	0,832

Data uji homogenitas (*Levene's test*) terhadap variabel makrofag penghasil FGF di atas menunjukkan nilai signifikansi atau probabilitas (p) $< 0,05$, ini menunjukkan varian sampel antar kelompok tidak homogen sehingga untuk variabel makrofag penghasil FGF tidak bisa dianalisis menggunakan uji F (ANOVA). Variabel makrofag penghasil FGF dianalisis menggunakan *independent t-test* karena datanya berdistribusi normal. Data uji homogenitas (*Levene's test*) terhadap variabel makrofag penghasil EGF di atas menunjukkan

nilai signifikansi atau probabilitas (p) $> 0,05$, ini menunjukkan varian sampel antar kelompok homogen sehingga untuk variabel makrofag penghasil FGF bisa dianalisis menggunakan uji F (ANOVA).

5.2.3 Hasil Uji Beda Variabel Makrofag Penghasil FGF

Uji beda dilakukan terhadap tiap kelompok dengan menggunakan *independent t-test* untuk melihat pengaruh perlakuan pada hari ke-4. Uji *independent t-test* dipakai karena variansi sampel antar kelompok tidak homogen untuk nilai makrofag penghasil FGF tetapi data berdistribusi normal. Uji ini dilakukan dengan cara membandingkan rerata makrofag penghasil FGF pada tiap kelompok. Berikut hasil uji T dari nilai makrofag penghasil FGF (lampiran 16)

Tabel 5.6 Hasil *independent t-test*

Kelompok I ($\bar{x} \pm SD$)	Kelompok II ($\bar{x} \pm SD$)	<i>t-test</i> (p)
K ($21,08 \pm 5,56$)	P1 ($24,50 \pm 5,13$)	0,111
K ($21,08 \pm 5,56$)	P2 ($29,80 \pm 2,27$)	0,001
P1 ($24,50 \pm 5,13$)	P2 ($29,80 \pm 2,27$)	0,012

Hasil *independent t-test* antar kelompok perlakuan dari tabel diatas tersebut menunjukkan bahwa kelompok perlakuan 1 (SSD) tidak berbeda dengan kelompok kontrol (PZ) dengan $p=0,111$ ($p>0,05$), kelompok perlakuan 2 (LLLT + SSD) lebih tinggi dari kelompok kontrol (PZ) dengan $p= 0,001$ ($p<0,05$), dan kelompok perlakuan 2 (LLLT + SSD) lebih tinggi dari kelompok perlakuan 1 (SSD) dengan $p=0,012$ ($p<0,05$).

5.2.4 Hasil Uji Beda Variabel Makrofag Penghasil EGF

Uji beda antara kelompok dilakukan dengan menggunakan uji F (*Oneway Anova*) kemudian dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference*) untuk melihat pengaruh perlakuan pada hari ke-4. Uji F dipakai karena variansi sampel antar kelompok sama untuk nilai makrofag penghasil EGF dan data berdistribusi

normal. Uji F antara kelompok perlakuan menghasilkan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$) sehingga menunjukkan adanya pengaruh perlakuan terhadap variabel makrofag penghasil EGF (lampiran 17). Uji F tersebut dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok perlakuan. Hasil uji LSD sebagai berikut (lampiran 18).

Tabel 5.7 Hasil uji LSD

Kelompok I ($\bar{x} \pm SD$)	Kelompok II ($\bar{x} \pm SD$)	LSD (p)
K ($21,08 \pm 5,56$)	P1 ($24,50 \pm 5,13$)	0,862
K ($21,08 \pm 5,56$)	P2 ($29,80 \pm 2,27$)	0,000
P1 ($24,50 \pm 5,13$)	P2 ($29,80 \pm 2,27$)	0,000

Uji LSD dari data tersebut menunjukkan bahwa kelompok perlakuan 1 (SSD) tidak berbeda dengan kelompok kontrol (PZ) dengan $p=0,862$ ($p>0,05$), kelompok perlakuan 2 (LLLT + SSD) lebih tinggi dari kelompok kontrol (PZ) dengan $p=0,000$ ($p<0,05$), dan kelompok perlakuan 2 (LLLT + SSD) lebih tinggi dari kelompok perlakuan 1 (SSD) dengan $p=0,000$ ($p<0,05$).

BAB 6

PEMBAHASAN

Pembahasan pada bab ini diuraikan berdasarkan analisis hasil penelitian dan dihubungkan dengan konsep dan teori yang sudah ada. Pendekatan pembahasan di bawah ini dilakukan dengan menunjuk rumusan masalah dan hipotesis yang telah dibuat pada bab sebelumnya.

6.1 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan pengaruh *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat II pada mencit (*mus musculus*) jantan galur BALB/c. Bentuk penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris karena adanya perlakuan yang berupa penyinaran dengan *low level laser* dan pemberian *silver sulfadiazine* topikal terhadap kelompok perlakuan yang terpilih melalui randomisasi. Randomisasi merupakan salah satu syarat yang harus dipenuhi oleh suatu penelitian eksperimental murni (*true experimental study*) disamping kontrol terhadap variabel perancu (Notoatmojo, 2002). Kontrol terhadap variabel perancu dapat dilakukan dengan cara menggunakan unit eksperimen yang homogen, mencegah semaksimal mungkin masuknya faktor dari luar dan menggunakan rancangan penelitian yang efisien.

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan postes dengan kelompok kontrol (*the post-test only control group design*), karena pengaruh perlakuan (intervensi) akibat penyinaran dengan *low level laser* dan pemberian *silver sulfadiazine* topikal terhadap kelompok perlakuan diukur pada

akhir penelitian yang selanjutnya dibandingkan dengan data dari kelompok kontrol. Peneliti dapat melihat pengaruh langsung dari suatu intervensi terhadap kelompok perlakuan dengan rancangan ini, tetapi tidak dapat menentukan seberapa besar perubahan itu terjadi sebab pretes tidak dilakukan untuk menentukan data awal.

Bentuk intervensi yang dilakukan terhadap hewan coba pada penelitian ini berupa penyinaran *low level laser* dan pemberian *silver sulfadiazine* topikal langsung pada kulit yang mengalami luka bakar derajat II.

6.1.1 Unit Eksperimen dan Besar Replikasi

Unit eksperimen pada penelitian ini adalah mencit jantan (*mus musculus*) galur BALB/c umur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram dan dalam keadaan sehat. Alasan pemilihan hewan coba ini adalah karena *mus musculus* bisa didapatkan secara *inbreeding*, tahan terhadap segala perlakuan, murah, mudah didapat dan mudah pemeliharaannya dibandingkan hewan coba yang lain. Berat badan *mus musculus* dapat mencapai 20-30 gram pada umur 2-3 bulan. *Mus musculus* pada umur tersebut digolongkan di dalam umur dewasa muda, dimana pada umur tersebut mereka lebih tahan terhadap penyakit, serta cepat dalam merespon penyembuhan luka (Malole, 1989).

Besar replikasi per kelompok adalah 8 ekor, terdapat 3 kelompok sehingga unit eksperimen yang dibutuhkan adalah 24 ekor. Besar replikasi per kelompok didapat dengan menggunakan rumus Federer (Federer, 1955). Hewan coba tidak ada yang *droup out* atau mati selama penelitian ini berlangsung.

6.1.2 Variabel Penelitian

Variabel bebas (*predictor*) pada penelitian ini adalah *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal 1%. Variabel tergantung (*outcome*) pada penelitian ini adalah makrofag penghasil EGF dan FGF yang dievaluasi dengan teknik imunohistokimia. Variabel tergantung tersebut diamati untuk melihat efek laser terhadap sekresi EGF dan FGF oleh makrofag. Faktor pertumbuhan tersebut diharapkan dapat merangsang fibroblas dan keratinosit yang rusak akibat paparan dengan *silver sulfadiazine*. Variabel terkendali pada penelitian ini adalah lokasi luka bakar, derajat luka bakar, dosis terapi laser, cara pemberian terapi laser, konsentrasi *silver sulfadiazine*, dan cara pemberian *silver sulfadiazine*.

6.1.3 Pembuatan Luka Bakar Derajat II

Pemilihan area punggung (*dorsum*) hewan coba sebagai area luka bakar dengan diameter 1 cm karena area tersebut merupakan area terluas dari hewan coba dan relatif jauh dari organ vital. Teknik pembuatan luka bakar derajat II didasarkan pada penelitian yang dilakukan Bayat *et al* pada tahun 2005. Pencukuran rambut pada hewan coba dilakukan dengan tujuan agar penetrasi panas oleh logam panas pada saat pembuatan luka bakar lebih cepat, lesi luka bakar lebih mudah terlihat, dan penetrasi sinar laser dan salep *silver sulfadiazine* pada saat perawatan luka bakar menjadi lebih baik.

6.1.4 Penyinaran *Low Level Laser*

Penyinaran *low level laser* langsung pada kulit yang mengalami luka bakar derajat II dengan menggunakan alat laser semikonduktor AlGaInP (Kanxing GX-1000) dengan dosis 4 J/cm^2 , panjang gelombang 680 nm dan daya 5,56 mWatt selama 60 detik. Pemberian dosis tersebut berdasarkan besar dosis laser yang

efektif untuk mendapatkan efek biostimulasi pada proses penyembuhan (Laakso *et al*, 1993). Penyinaran *low level laser* pada hewan coba dengan luka bakar derajat II yang diberikan *silver sulfadiazine* topikal diharapkan mampu memperbaiki kerusakan fibroblas dan keratinosit yang terjadi pada paparan *silver sulfadiazine* selama 72 jam (Atiyeh *et al*, 2007).

6.1.5 Silver Sulfadiazine Topikal

Pemberian salep *silver sulfadiazine* 1% secara dioleskan dengan ketebalan 2-3 mm dan dilakukan pembalutan kasa steril dan plester (Pruitt *et al*, 1997). Pemilihan *silver sulfadiazine* (Ag-SD) sebagai antimikroba profilaksis pada luka bakar karena *silver sulfadiazine* merupakan standar baku antimikroba profilaksis pada luka bakar yang relatif sempit (5-20%) dan umum digunakan di berbagai *center* (Georgiade & Pederson, 1995).

6.1.6 Irigasi Larutan NaCl 0,9%

Irigasi luka bakar dengan larutan NaCl 0,9% dilakukan untuk membersihkan luka dari debris dan sisa salep sehingga penetrasi sinar laser dan salep *silver sulfadiazine* pada luka menjadi lebih baik.

6.1.7 Pembalutan Kasa Steril (Perawatan Luka Tertutup)

Pembalutan luka bakar setelah perlakuan dengan kasa steril dan plester dilakukan karena untuk mencapai keadaan lembab (*moist*). Alasan dilakukan perawatan luka tertutup (*closed dressing*) karena merangsang fibrinolitik oleh netrofil, merangsang angiogenesis karena hipoksia jaringan, kejadian infeksi lebih rendah dibandingkan dengan perawatan terbuka (2,6% vs 7,1 %), merangsang pembentukan *growth factor* dan invasi lekosit ke area luka terjadi lebih dini (Baxter, 1990). Hewan coba pada kelompok kontrol juga dilakukan pembalutan

dengan kasa steril karena prinsipnya pada penelitian, semua hewan coba diperlakukan sama.

6.1.8 Pengamatan Makrofag Penghasil FGF dan Makrofag Penghasil EGF

Pengamatan makrofag penghasil FGF dan penghasil EGF dilakukan dengan teknik imunohistokimia secara *indirect* metode *Biotin Streptavidin Amplified* (BSA), karena FGF dan EGF dapat berikatan dengan antibodi monoklonal pada pengecatan imunohistokimia, sehingga bisa dievaluasi. Metode ini menggunakan dua macam antibodi, yaitu antibodi primer (tidak berlabel) dan antibodi sekunder (berlabel). Antibodi primer bertugas mengenali antigen yang diidentifikasi pada jaringan (*first layer*), sedangkan antibodi sekunder akan berikatan dengan antibodi primer (*second layer*). Antibodi sekunder merupakan anti-antibodi primer.

Pembuatan preparat dilakukan pada hari ke-4 pasca luka, karena migrasi makrofag ke area luka dimulai pada hari ke-2 pasca luka dan sekresi *growth factor* oleh makrofag dimulai hari ke-4 pasca luka (Tsirogianni *et al*, 2006).

6.1.8 Analisis Data Statistik

Data nilai makrofag penghasil FGF dan makrofag penghasil EGF disajikan sebagai data rasio, sehingga dianalisis menggunakan statistik parametrik. Perbedaan pengaruh perlakuan antara tiap kelompok untuk variabel makrofag penghasil EGF diuji dengan uji F satu arah (*one way ANOVA test*) karena data berdistribusi normal dan varian antar perlakuan homogen. Perbedaan pengaruh perlakuan antara tiap kelompok untuk variabel makrofag penghasil FGF diuji dengan uji t independen (*independent t-test*) karena data berdistribusi normal dan varian antar perlakuan tidak homogen. (Notoatmojo, 2002).

6.2 Pembahasan Hasil Penelitian

Hasil penelitian yang telah diolah dan dianalisis dengan metode statistik diinterpretasikan lebih lanjut sesuai dengan tujuan dan hipotesis penelitian yang telah dibuat. Interpretasi data ini bertujuan untuk mengambil kesimpulan yang lebih umum sehingga dapat digeneralisasikan secara jelas tentang arti dari hasil penelitian tersebut (*statistic inferensial*). Pembahasan ini juga dimaksudkan untuk menjelaskan permasalahan penelitian yang diutarakan pada awal penelitian sehingga tujuan penelitian dapat tercapai.

6.2.1 Uji Normalitas

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui bahwa data yang diperoleh pada hasil penelitian berdistribusi normal. Hal ini dilakukan untuk memenuhi salah satu persyaratan penguian parametrik, yaitu normalitas data. Uji normalitas dilakukan terhadap variabel tergantung yaitu nilai makrofag penghasil FGF dan makrofag penghasil EGF. Uji ini juga dilakukan terhadap variabel tergantung yang terdapat pada kelompok perlakuan.

Hasil uji normalitas dengan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov Test* terhadap kedua variabel tersebut diperoleh nilai $> 0,05$ (Tabel 5.4). Hal ini berarti bahwa data kedua variabel tersebut adalah normal (Santoso, 2005), sehingga persyaratan uji statistik parametrik telah terpenuhi.

6.2.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan untuk mengevaluasi variansi sampel. Varian sampel harus sama untuk melakukan analisis dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA), karena jika berbeda maka pengambilan sampel akan bias. Uji homogenitas dilakukan dengan alat uji Levene's yang berpedoman kepada nilai

signifikansi atau nilai probabilitas (p). Nilai $p < 0,05$ menunjukkan distribusi varian sampel tersebut tidak homogen dan nilai $p > 0,05$ menunjukkan data tersebut berdistribusi normal.

Data hasil uji homogenitas (*Levene's test*) terhadap variabel makrofag penghasil FGF pada penelitian ini menunjukkan nilai signifikansi atau probabilitas (p) $< 0,05$ (Tabel 5.5) sehingga untuk variabel makrofag penghasil FGF tidak bisa dianalisis menggunakan uji F (*ANOVA test*). Variabel makrofag penghasil FGF dianalisis menggunakan *independent t-test* karena datanya berdistribusi normal. Data hasil uji homogenitas (*Levene's test*) terhadap variabel makrofag penghasil EGF pada penelitian ini menunjukkan nilai signifikansi atau probabilitas (p) $> 0,05$ (Tabel 5.5) sehingga untuk variabel makrofag penghasil FGF bisa dianalisis menggunakan uji F (*ANOVA test*).

6.2.3 Hasil Uji Beda

Hasil analisis data penelitian dengan *independent t-test* terhadap nilai makrofag penghasil FGF antar kelompok perlakuan menunjukkan bahwa pemberian *silver sulfadiazine* topikal (P1) tidak memberikan pengaruh yang bermakna terhadap nilai makrofag penghasil FGF dibandingkan pemberian larutan NaCl 0,9% (K) dengan $p > 0,05$ (Tabel 5.6). Kombinasi *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal (P2) memberikan pengaruh yang bermakna terhadap nilai makrofag penghasil FGF dibandingkan pemberian larutan NaCl 0,9% (K) dengan $p < 0,05$ (Tabel 5.6). Kombinasi *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal (P2) memberikan pengaruh yang bermakna terhadap

nilai makrofag penghasil FGF dibandingkan pemberian *silver sulfadiazine* topikal (P1) dengan $p < 0,05$ (Tabel 5.6).

Hasil analisis data penelitian dengan uji F terhadap nilai makrofag penghasil EGF antara kelompok perlakuan menghasilkan nilai $p < 0,05$ (Lampiran 17) sehingga menunjukkan adanya pengaruh perlakuan terhadap variabel makrofag penghasil EGF. Uji F tersebut dilanjutkan dengan uji LSD antar kelompok perlakuan menunjukkan bahwa pemberian *silver sulfadiazine* topikal (P1) tidak memberikan pengaruh yang bermakna terhadap nilai makrofag penghasil EGF dibandingkan pemberian larutan NaCl 0,9% (K) dengan $p > 0,05$ (Tabel 5.7). Kombinasi *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal (P2) memberikan pengaruh yang bermakna terhadap nilai makrofag penghasil EGF dibandingkan pemberian larutan NaCl 0,9% (K) dengan $p < 0,05$ (Tabel 5.7).

Low level laser therapy diketahui dapat menginduksi proses penyembuhan luka. Studi dengan limfosit menunjukkan bahwa iradiasi laser dapat mengakibatkan peningkatan produksi sitokin, aktivitas fagositosis dan aktivasi leukosit. Studi dengan makrofag menunjukkan peningkatan aktivitas enzim lisozim dan asam fosfatase, stimulasi dari pelepasan faktor pertumbuhan, dan peningkatan aktivitas fagositosis. Beberapa data penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa *low level laser* memfasilitasi sintesis kolagen, merangsang motilitas keratinosit, pelepasan faktor pertumbuhan, dan mengubah fibroblas menjadi miofibroblas (Riberio & Albuquerque, 2009). Radiasi dengan *low level laser* dapat menyebabkan efek biologi seperti merangsang proliferasi sel, sintesa kolagen, pelepasan faktor pertumbuhan, stimulus terhadap makrofag dan limfosit (Silveira *et al*, 2009).

Mekanisme perangsangan oleh iradiasi laser terhadap sel belum sepenuhnya dimengerti. Teori dasar menyebutkan bahwa foton yang terdapat pada laser berinteraksi dengan sel. Absorpsi energi foton menjadi molekul menyebabkan energi kinetik sel meningkat, sehingga terjadi modulasi perilaku sel, baik dalam bentuk pengaktifan atau penghambatan. Efek patobiologi laser terhadap sel terbagi menjadi dua, yaitu reaksi primer (terinduksi cahaya) dan reaksi sekunder (tidak terinduksi cahaya). Terjadi absorpsi cahaya oleh enzim mitokondria dan membran sel pada reaksi primer, sehingga meningkatkan transfer electron dan aktivasi *calcium channel* pada membran. Terjadi perubahan pH sel, aktivasi ATP, dan peningkatan kalsium intraseluler pada reaksi sekunder.

Aktivasi makrofag oleh foton dari laser melalui perangsangan pada membran sel dan mitokondria. Absorpsi foton pada membran sel menyebabkan potensial membran sel terhadap kalsium meningkat, sehingga influks ion kalsium meningkat. Peningkatan ion kalsium akan meningkatkan konsentrasi kalsium sitosol. Kalsium sitosol berikatan dengan kalsinurin yang akan mengaktifkan NF- $\chi\beta$. NF- $\chi\beta$ mengstimulus proses transkripsi dalam inti sel makrofag untuk membentuk berbagai macam protein sitokin dan faktor pertumbuhan (Dube, 2003). Foton dapat merangsang enzim sitokrom c-oksidadase (*mitokondria respiratory chain complex IV*), sehingga terjadi peningkatan transfer elektron, respirasi mitokondria dan sintesa ATP. Peningkatan produksi ATP dan kalsium sitosol akan menginduksi proses biologi pada makrofag (Silveira *et al*, 2009).

Silver sulfadiazine (Ag-SD) merupakan standar baku antimikroba topikal profilaksis pada luka bakar yang relatif sempit (5-20%) dan umum digunakan di berbagai *center* (Georgiade & Pederson, 1995). Penelitian terbaru menunjukkan

bahwa senyawa *silver* dapat menunda proses penyembuhan luka dan memiliki aktivitas sitotoksik pada berbagai host (Cho Lee *et al*, 2005). Berbagai literatur menyatakan bahwa *silver* bersifat toksik untuk keratinosit dan fibroblas (Poon & Burd, 2004). Keratinosit berperan dalam proses re-epitelisasi dan fibroblas berperan dalam fibrogenesis dan deposit matriks ekstraseluler pada penyembuhan luka. Paparan *silver sulfadiazine* lebih dari 72 jam pada luka dapat merusak keratinosit dan fibroblas sehingga proses penyembuhan luka terganggu (Atiyeh, 2007).

Penyinaran *low level laser* diharapkan dapat mengurangi efek samping *silver sulfadiazine* melalui perangsangan makrofag, sehingga makrofag lebih teraktivasi untuk menghasilkan faktor pertumbuhan yang dapat mengstimulus fibroblas dan keratinosit, yaitu FGF dan EGF (Tsirogianni *et al*, 2006). Makrofag adalah sel utama dalam perbaikan jaringan pada dermis. Penelitian histologis sebelumnya menunjukkan bahwa tidak ada yang perbedaan mekanisme proses penyembuhan luka antara luka bakar dan luka insisi pada kulit (Bayat *et al*, 2005). Makrofag berperan dalam debridemen jaringan, sekresi faktor kemotaksis yang menarik fibroblas dan endotel, sekresi faktor pertumbuhan, dan menstimulasi sintesis kolagen oleh fibroblas. Fibroblas menghasilkan matriks sehingga sel lainnya dapat bermigrasi. Fibroblas dapat bertransformasi menjadi miofibroblas, yang bertanggung jawab untuk kontraksi luka. Produk akhir penyembuhan adalah re-epitelisasi yang diperankan oleh keratinosit, sebagai perlindungan dari cairan dan partikel asing dan pemeliharaan lingkungan internal (Bayat *et al*, 2005).

Penelitian ini menunjukkan *low level laser therapy* dapat menginduksi proses penyembuhan luka bakar yang diberikan *silver sulfadiazine* topikal. Hal

ini terlihat dari peningkatan signifikan dari makrofag penghasil EGF dan makrofag penghasil FGF pada kelompok yang diberikan kombinasi *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* dibandingkan dengan kelompok yang tidak diterapi laser. Penelitian yang dilakukan Bayat *et al* pada tahun 2005 menunjukkan bahwa pada kelompok luka bakar derajat II yang diberikan *low level laser therapy* terjadi penurunan jumlah makrofag pada hari ke 16 dan 30. Penelitian tersebut menyimpulkan bahwa *low level laser therapy* tidak memberikan efek menguntungkan pada penyembuhan luka bakar dilihat dari pengamatan kuantitatif terhadap sel makrofag, fibroblas dan ketebalan epidermis. Penelitian tersebut menggunakan *low level laser therapy* dengan jenis laser *helium-neon* (He-Ne) dengan energi 1,2 dan 2,4 J/cm² pada 60 tikus galur Wistar dengan luka bakar derajat 2 selama 16 dan 30 hari. Hasil penelitian kami berbeda dengan penelitian dari Bayat *et al*. Alasan berbedanya kesimpulan tersebut mungkin disebabkan perbedaan teknik pembuatan luka bakar, lingkungan mikro terkait dengan luka bakar, jenis laser, dosis penyinaran laser yang diberikan, dan lamanya perlakuan. Penelitian kami melakukan pengamatan terhadap makrofag penghasil EGF dan makrofag penghasil FGF dengan teknik imunohistokimia pada hari ke 4 setelah terbentuk luka bakar. Penelitian Bayat *et al* melakukan pengamatan terhadap makrofag dengan pewarnaan HE pada hari ke 16 dan 30 setelah terbentuk luka bakar. Perbedaan waktu dimana pengamatan kami pada hari ke 4 memberikan data makrofag penghasil EGF dan FGF lebih tinggi pada kelompok yang diberikan kombinasi *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal daripada kelompok lainnya, memberikan kesimpulan bahwa *low level laser therapy* memberikan pengaruh yang positif terhadap proses penyembuhan

luka pada fase inflamasi (hari ke 1 sampai 4) dan fase proliferasi (hari ke 4 sampai 21) dimana sel yang berperan adalah makrofag. Penelitian Bayat *et al* memberikan data makrofag pada hari ke 16 dan 30 lebih rendah pada kelompok yang diberikan *low level laser therapy* daripada kelompok lainnya, karena menurut kami pada waktu dilakukan pengamatan, proses penyembuhan luka memasuki fase maturasi (21 hari sampai 2 tahun) dimana sel yang berperan adalah fibrosit, bukan makrofag.

Beberapa penelitian lainnya menunjukkan irradiasi laser dapat menginduksi proses penyembuhan luka (Lyons *et al*, 1987; Mester *et al*, 1971). Mester *et al*, 1971, menggunakan laser ruby (694,3 nm) dengan energi 0,2; 1; 5; dan 10 J/cm² pada luka bakar derajat III pada tikus, menemukan dampak signifikan dari 1 J/cm² dosis tetapi tidak untuk dosis lainnya pada re-epitelisasi. Rochkind *et al*, 1989, menunjukkan adanya percepatan penyembuhan luka bakar setelah perawatan dengan laser *helium-neon* (10 J/cm²). Alasan keberagaman kesimpulan dari berbagai penelitian tersebut mungkin disebabkan perbedaan teknik pembuatan luka bakar, lingkungan mikro terkait dengan luka bakar (Wolf *et al*, 2001) dan jenis dan dosis penyinaran laser.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Jumlah makrofag penghasil EGF pada proses penyembuhan luka bakar derajat II yang diberikan kombinasi *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal lebih banyak daripada jumlah makrofag penghasil EGF pada proses penyembuhan luka bakar derajat II yang diberikan *silver sulfadiazine* topikal saja.
2. Jumlah makrofag penghasil FGF pada proses penyembuhan luka bakar derajat II yang diberikan kombinasi *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal lebih banyak daripada jumlah makrofag penghasil FGF pada proses penyembuhan luka bakar derajat II yang diberikan *silver sulfadiazine* topikal saja.

7.2 Saran

1. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan pada pasien luka bakar mengenai pengaruh kombinasi *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal terhadap penyembuhan luka dan pencegahan infeksi pada lesi.
2. Kombinasi *low level laser therapy* dan *silver sulfadiazine* topikal dapat diaplikasikan dalam penanganan pasien luka bakar derajat II.

KEPUSTAKAAN

- Atiyeh BS, Costagliola M, Hayek SN, Dibo SA, 2007. Effect of silver on burn wound infection control and healing : Review of literature. Division Plastic and Reconstructive Surgery, American University of Beirut Medical Centre. Lebanon. *Burns* Volume 33 March 2007 pages 139 – 148. Available at ; www.sciencedirect.com
- Barillo DJ, MacManus AT, 1999. *Infection an Burn Patients*, in : J Cohen Armstrong, *Infectious Diseases*, Mosby, London.
- Bayat M, Vasheghani MM, Razavi N, Taheri S, Rakhshan M, 2005. Effect of low-level laser therapy on the healing of second-degree burns in rats ; a histological and microbiological study. *Journal of Photochemistry and Photobiology*. Available at www.sciencedirect.com
- Bayat M, Vasheghani MM, Razavi N, Taheri S, Rakhshan M, 2006. Effect of low level helium neon laser therapy on the healing of third degree burns in rats. *Journal of Photochemistry and Photobiology* volume 83, issue 2, 1 May 2006, pages 87 – 93. Available at ; www.sciencedirect.com
- Basford JR, 1993. Laser therapy : scientific basis and clinical role. *Journal of Laser in Orthopaedic Surgery*. May 1993, 16(5) : 541-547.
- Baxter C, 1990. *The normal healing process*. In: New Directions in Wound Healing. *Wound care manual*; February 1990. Princeton, NJ: E.R. Squibb & Sons, Inc.
- Borland CZ, Schutzman JL, Stern MJ, 2001. Fibroblast growth factor signaling in *Caenorhabditis elegans*. *Bioessays* 23 (12): 1120–1130
- Cervantes C, Silver S, 1996. *Metal resistance in pseudomonas: genes and mechanisms*. In : Nakazawa T, Furukawa K, Haas D, Silver S, 1996. *Molecular biology of Pseudomonas*. Washington, DC: American Society for Microbiology
- Chaby G, Viseux V, Poulain JF, De Cagny B, Denoeux JP, Lok C, 2005. Topical silver sulfadiazine-induced acute renal failure. *Ann Dermatol Venereol* 2005;132(11 Pt 1):891–3.
- Cho Lee AR, Leem H, Lee J, Park KC, 2005. Reversal of silver sulfadiazine-impaired wound healing by epidermal growth factor. *Biomaterials* 2005;26(22):4670–6.
- Enoch S, Leaper DJ, 2005. Basic science of wound healing. *Surgery* (Oxford) volume 23 issue 2 1 February 2005 pages 37 – 42. Available at ; www.sciencedirect.com

- Fuller, FW, 2009. The Side Effects of Silver Sulfadiazine. *Journal of Burn Care & Research: May/June 2009 - Volume 30 - Issue 3 - pp 464-470*
- Gabbiani G. 2004. The Evolution of The Myofibroblast Concepts : a Key Cell for Wound Healing and Fibrosis Diseases. *J G Gerontol* 2004 ; 52 : 280-282
- Greenhalgh DG, 1998. The role of apoptosis in wound healing. *Int J Biochem Cell Biol* 1998; 30:1019-30.
- Georgiade GS, Pederson WC. *Luka Bakar*. Dalam : Andrianto P, Oswari J (ed), 1995. Buku Ajar Bedah. Terjemahan dari Sabiston's Essentials of Surgery first edition 1987. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hal 151-163
- Harris RC, Chung E, Coffey RJ, 2003. EGF receptor ligands. *Exp. Cell. Res.* 284 (1): 2-13.
- Herbst RS, 2004. Review of epidermal growth factor receptor biology. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics* 59
- Holmes JH, Hembach DM, 2005. *Burns*. In : Brunicardi FC, Andersen DK, 2005. *Schwartz's Principle of Surgery eighth edition*. The McGraw-Hill Companies, Inc. USA
- Hopkins J, McLoda TA, Seegmiller JG, Baxter GD, 2004. Low-Level Laser Therapy Facilitates Superficial Wound Healing in Humans: A Triple-Blind, Sham-Controlled Study. *J Athl Train*. 2004 Jul-Sep; 39(3): 223-229.
- Hunt T, 1980. *Wound Healing and Wound Infection: Theory and Surgical Practice*. New York, NY: *Appleton-Century-Crofts*.
- Jurjus A, Atiyeh BS, 2007. Pharmacological modulation of wound healing in experimental burns. *Journal of Burns* volume 33 pages 892 – 907. Available at : www.sciencedirect.com
- Kartohatmojo S, 2007. *Luka Bakar*. Bahan Ajar Kuliah PBL FK UWKS. Surabaya.
- Kawalec JS, Hetherington VJ, Pfennigwerth TC, Dockery DS, 2004. Effect of a Diode Laser on Wound Healing by Using Diabetic and Nondiabetic Mice. *The Journal of Foot & Ankle Surgery*. July 2004. Page 214,216-217,219
- Kert J, 1989. *Clinical laser therapy : low level laser therapy*. Scandinavian Medical Laser Technology. USA
- Kirsner RS, Orstead H, Wright JB, 2001. Matrix metalloproteinases in normal and impaired wound healing: a potential role for nanocrystalline silver. *Wounds* 2001;13(3 Suppl. C):5-12.

- Klasen HJ, 2001. Historical review of the use of silver in the treatment of burns. I. Early uses. *Burns* 2001;26:117-30
- Kondo S, 1999. The roles of keratinocyte-derived cytokines in the epidermis and their possible responses to UVA-irradiation. *J Investig Dermatol Symp Proc* 1999;4:177-83.
- Kusumawati D, 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Gajah Mada University Press. Jogjakarta. Hal 5-8, 25-45, 71-77, 82-112.
- Lorenz HP, Longaker MT, 2003. *Wounds: Biology, Pathology, and Management*. Stanford University Medical Center.
- Matroprawiro SS, 1996. *Peranan Patologi Anatomi dalam menegakkan Diagnostik Penyakit dengan Teknik HE, Histokimia, Imuhistokimia, Papanicolou dan MGG*. RSUD dr Soetomo. Hal 10-15. Surabaya.
- McCauley RL, Linares HA, Pelligrini y Herndon DN, Robson MC, Haggars JP, 1989. *In vitro toxicity of topical antimicrobial agents to human fibroblasts*. *J Surg Res* 1989;46:267-74
- Mignatti P, Rifkin D, Welgus H, 1996. *Proteinases and tissue remodeling*. In: Clark RA (ed). *The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair*. New York, NY: Plenum Press, 1996;427-74.
- Mirsattari SM, Hammond RR, Sharpe MD, Leung F, Young GB, 2004. *Myoclonic status epilepticus following repeated oral ingestion of colloidal silver*. *Neurology* 2004;62(8):1408-10
- Moenadjat Y, 2000. Luka Bakar: *Penatalaksanaan Awal dan Penatalaksanaannya dalam Ramlim, Umbas R, Panigoro SS, 2000. Kedaruratan Non-Bedah dan Bedah*. : Balai Penerbit FKUI. hal. 62-70. Jakarta
- Mukti A, 2008. Asuhan Keperawatan Anak dengan Combustio grade II di RS dr Mawardhi Surakarta. *Karya Tulis Ilmiah, Fakultas Kesehatan Universitas Muhammadiyah*. Surakarta.
- Mutsaer BE, Bishop JE, McGrouther G, Laurent GJ, 1997. Introductory Overview *Mechanisms of Tissue Repair: from Wound Healing to Fibrosis*. *J. Biochem Cell Bid*. Vol. 29, No. 1, pp. 5-17
- Newman SL, Henson JE, Henson PM, 1982. Phagocytosis of senescent neutrophils by human monocyte-derived macrophages and rabbit inflammatory macrophages. *J Exp Med* 1982;156:430-42.
- Notoadmojo S, 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. PT Rineka Cipta. Jakarta. Hal 36-79, 156

- Ohshiro T, Calderhead RG, 1988. *Low Level Laser Therapy*. John Wiley and Sons Ltd. USA. Pp 63-65
- Olsen SK, Garbi M, 2003. Fibroblast growth factor (FGF) homologous factors share structural but not functional homology with FGFs. *J. Biol. Chem.* 278 (36): 34226-34236.
- Ornitz DM, Itoh N, 2002. Fibroblast growth factors. *Genome Biol* 2: 1-12
- Perdana BP, Kusumawardhani A, 2000. Aplikasi laser Gallium-Alluminium-Arsenide untuk penyembuhan luka. *Prosiding seminar nasional aplikasi fotonika*. Fakultas Teknologi Industri ITS. Surabaya.
- Poon VK, Burd A, 2004. In vitro cytotoxicity of silver: implication for clinical wound care. *Burns* 2004;30:140-7.
- Pusponegoro AD, Prasetyono, TOH, Ahmadsyah I (ed). *Luka*. Dalam *Sjamsulhidajat R, Jong WD (ed), 2005. Buku Ajar Ilmu Penyakit Bedah*. Edisi 2. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta. Hal : 67-85
- Pruitt BA Jr., Goodwin CW Jr., Pruitt SK. *Burns : Including Cod, Chemical, and Electrical Injuries*. In Sabiston DC Jr., Lyerly HK (ed), 1997. *Textbook of Surgery : The Biological Basis of Modern Surgical Science*. W.B. Saunders Company. Philadelphia. Pg : 221-229
- Revis DR, Seagle MB, 2006. *Skin Anatomy*. E-medicine serial online cited 2006 March 7. Available from: <http://www.emedicine.com/plastic/topic389.htm>
- Riana R, Perdanakusuma DS, 2007. Heparin effect on VEGF and EGFR after deep second and third degree burns in rattus novergicus strain wistar. *Folia Medica Indonesiana* vol 43 no 1 Januari 2007.
- Ribeiro MAG, Albuquerque RLC, 2009. Immunohistochemical Assessment of Myofibroblasts and Lymphoid Cells During Wound Healing in Rats Subjected to Laser Photobiomodulation at 660 nm. *Journal Photomedicine and Laser Surgery*. February 2009, 27(1): 49-55.
- Romanos GE, Pelekanos S, Strub JR, 1995. Histological and Immunohistochemical Observations of the Wound-Healing Processes after the Use of the Nd:YAG Laser in Rat Skin: Distribution of Collagen Types IV and VII in Connective Tissue. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*. April 1995, 13(2): 87-95.
- Ross MH, Gordon GI, Pawlina W, 2003. *Histology : A Text & Atlas*. USA: Lippincott Williams & Wilkins. Kindly Supplied by Virtual Nursing Education.

- Russell AD, Hugo WB, 1994. Antimicrobial activity and action of silver. *Prog Med Chem* 1994;31:351-70.
- Sheridan RL, 2001. Comprehensive treatment of burns. Massachusetts, *Current Problem in Surgery* volume 38 issue 9. September 2001. pages 657 - 756. Available at ; www.sciencedirect.com
- Sihombing M, 2006. *Pengaruh sinar laser energi rendah terhadap pembentukan kalus pada proses penyembuhan fraktur tulang tibia tikus putih (Rattus novergicus)*. Tesis. Program Pascasarjana Universitas Airlangga. Surabaya
- Silveira PCL, da Silva LA, Fraga DB, Freitas TP, Streck EL, Pinho R, 2009. Evaluation of mitochondrial respiratory chain activity in muscle healing by low level laser therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology* volume 95, issue 1, 2009, pages 89 - 92. Available at ; www.sciencedirect.com
- Singer AJ, Clark RA, 1999. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med* 1999 ; 341:738-46
- Staiano-Coico L, Higgins PJ, Schwartz SB, 2000. Wound fluids: A reflection of the state of healing. *Ost/Wound Manag* 2000;46:85S-93S
- Sudiana IK, 2008. *Tekhnologi ilmu jaringan dan imunohistokimia*. Penerbit Sagung Seto. Hal 34-46. Jakarta
- Supriyanto S, 2003. *Metodologi Riset Administrasi dan Kebijakan Kesehatan FKM Universitas Airlangga*. Surabaya. Hal 76-81.
- Swirski FK, Nahrendorf M, Etzrodt M, Wildgruber M, Cortez-Retamozo V, Panizzi P, Figueiredo J-L, Kohler RH, Chudnovskiy A, Waterman P, Aikawa E, Mempel TR, Libby P, Weissleder R, Pittet MJ, 2009. Identification of Splenic Reservoir Monocytes and Their Deployment to Inflammatory Sites. *Science*, 325: 612-616
- Trop M, Novak M, Rodl S, Hellbom B, Kroell W, Goessler W, 2006. Silver-coated dressing acticoat caused raised liver enzymes and argyria-like symptoms in burn patient. *J Trauma* 2006;60(3):648-52.
- Tsirogianni AK, Moutsopoulos NM, Moutsopoulos HM, 2006. Wound healing : immunological aspects. *Injury* vol 37 issue 1, April 2006, pages S5 - S12. Available at ; www.sciencedirect.com
- Vlodavsky Cao R, Bråkenhielm E, Pawliuk R, Wariaro D, Post MJ, Wahlberg E, Leboulch P, Cao Y, 2003. Angiogenic synergism, vascular stability and improvement of hind-limb ischemia by a combination of PDGF-BB and FGF-2. *Nature Med* 9 (5): 604-13

Warriner R, Burrell R, 2005. Infection and the chronic wound: a focus on silver. *Adv Skin Wound Care* 2005;18(8):2-12.

Whinfield AL, Aitkenhead I, 2009. *The light revival : does phototherapy promote wound healing? A review*. Dept of General Practice and Primary Care, King College London School of Medicine. London. Jan 2009. Available at : www.elsevier.com

White R, Cutting K, 2007. *Exploring the Effects of Silver in Wound Management - What is Optimal?*. Available at : www.MedscapeCME.com

Widya DK, 1992. Penggunaan Laser dalam Akupunktur, *Cermin Dunia Kedokteran* No. 79. hal 34-39

Wright JB, Hansen DL, Burrell RE, 1998. The Comparative efficacy of two antimicrobial barrier dressings: in vitro examination of two controlled release of silver dressings. *Wounds* 1998;10(6):179-88.

Wright JB, Lam K, Hansen D, Burrell RE, 1999. Efficacy of topical silver against fungal burn wound pathogens. *Am J Inf Control* 1999;27(4):344-50.

Lampiran 1

SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY, INC.

EGF (EGF-10): sc-57088



BACKGROUND

Epidermal growth factor (EGF) is an acid- and heat-stable 53 amino acid protein of 6 kDa originally found in rodents and humans. EGF has been shown to be a potent mitogen for a variety of cell types both *in vivo* and *in vitro*. It binds to the 170 kDa EGF receptor on the surface of cells and mediates intrinsic phosphorylation of the receptor on tyrosine residues. EGF has been detected in nearly all body fluids, such as urine (urogastrone), saliva, milk and platelet-rich plasma. EGF, TGF α and Vaccinia Virus growth factor exhibit 30-40% amino acid homology. Several additional members of the EGF/TGF family have been described; these include Cripto, Amphiregulin and the heparin-binding EGF-like growth factor, each of which, except Cripto, binds to the EGF receptor.

REFERENCES

- Cohen, S. 1962. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the newborn animal. *J. Biol. Chem.* 237: 1555-1562.
- Gregory, H. 1985. *In vivo* aspects of urogastrone-epidermal growth factor. *J. Cell. Sci. Suppl.* 3: 11-17.
- Stroobant, P., Rice, A.P., Gullick, W.J., Cheng, D.J., Kerr, I.M. and Waterfield, M.D. 1985. Purification and characterization of Vaccinia Virus growth factor. *Cell* 42: 383-393.
- Carpenter, G. and Zengdegui, J.G. 1986. Epidermal growth factor, its receptor, and related proteins. *Exp. Cell Res.* 164: 1-10.
- Derynck, R. 1986. Transforming growth factor α : structure and biological activities. *J. Cell Biochem.* 32: 293-304.
- Carpenter, G. 1987. Receptors for epidermal growth factor and other polypeptide mitogens. *Annu. Rev. Biochem.* 56: 881-914.
- Starkey, R.H. and Orth, D.N. 1987. Radioimmunoassay of human epidermal growth factor (urogastrone). *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 45: 1144-1153.
- Ciardiello, F., Kim, N., Saeki, T., Dono, R., Persico, M.G., Plowman, G.D., Garrigues, J., Radke, S., Todaro, G.J. and Salomon, D.S. 1991. Differential expression of epidermal growth factor-related proteins in human colorectal tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 7792-7796.

CHROMOSOMAL LOCATION

Genetic locus: EGF (human) mapping to 4q25; Egf (mouse) mapping to 3 G3.

SOURCE

EGF (EGF-10) is a mouse monoclonal antibody raised against full length EGF of human origin.

PRODUCT

Each vial contains 100 μ g IgG₁ in 1.0 ml of PBS with < 0.1% sodium azide and 0.1% gelatin.

RESEARCH USE

For research use only, not for use in diagnostic procedures.

APPLICATIONS

EGF (EGF-10) is recommended for detection of recombinant EGF of human origin by immunofluorescence and immunohistochemistry (including paraffin-embedded sections) (starting dilution 1:50, dilution range 1:50-1:500) and solid phase ELISA (starting dilution 1:30, dilution range 1:30-1:3000).

Suitable for use as control antibody for EGF siRNA (h): sc-39416.

Molecular Weight of EGF: 6 kDa.

RECOMMENDED SECONDARY REAGENTS

To ensure optimal results, the following support (secondary) reagents are recommended: 1) Immunofluorescence: use goat anti-mouse IgG-FITC: sc-2010 (dilution range: 1:100-1:400) or goat anti-mouse IgG-TR: sc-2781 (dilution range: 1:100-1:400) with UltraCruz™ Mounting Medium: sc-24941. 2) Immunohistochemistry: use ImmunoCruz™: sc-2050 or ABC: sc-2017 mouse IgG Staining Systems.

STORAGE

Store at 4° C, **DO NOT FREEZE**. Stable for one year from the date of shipment. Non-hazardous. No MSDS required.

PROTOCOLS

See our web site at www.scbt.com or our catalog for detailed protocols and support products.

Spesifikasi Antibodi FGF

SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY, INC.



© Santa Cruz Biotechnology, Inc.

FGF-1 (B-3): sc-55520

BACKGROUND

Fibroblast growth factor-1 (FGF1) also designated as bFGF and FGF-1, is a growth factor-2 (FGF-2) also referred to as basic FGF, are members of a family of growth factors that stimulate proliferation of cells of mesenchymal, epithelial and neuroectodermal origin. Additional members of the FGF family include the oncogenes FGF-3 (hsc) and FGF-4 (hsc, hsp), FGF-5, FGF-6, FGF-7 (KGF), FGF-8 (HGF), FGF-9 (uFGF), FGF-10. Members of the FGF family share 30-50% amino acid sequence identity and a conserved gene structure, and are capable of forming oligodimers when overexpressed in transfectant cells. FGF-1 receptors for FGFs are members of a receptor tyrosine kinase family including four cytosolic kinases designated FGF-1R, FGF-2R, FGF-3R, and FGF-4R.

REFERENCES

1. Moore R, et al. 1986. Sequence, topography and protein coding potential of mouse *fgf-2*, a putative oncogene associated to mouse mammary tumor. *Cell* 44:169-175, 97-102.
2. Eick B, et al. 1987. An oncogene created by transfection of supercoiled plasmid DNA into cells that is a structural member of the FGF family. *Cell* 50:719-727.
3. Zhang Y, et al. 1988. The human FGF-5 oncogene encodes a novel protein with a distinct growth factor. *Mol. Cell Biol* 8:3167-3175.
4. Eick B, et al. 1989. Recent developments in the cell biology of fibroblast growth factor. *J. Cell Biol* 109:1-6.
5. Eick B, et al. 1989. Overexpression of the HGF/hscFGF6 gene in the mouse *fgf-1* gene product family. *Oncogene* 4:335-340.
6. Eick B, et al. 1990. Cloning and expression of two distinct high affinity receptors for fibroblast growth factor and basic fibroblast growth factor. *EMBO J* 9:469-477.
7. Senojo A, et al. 1992. Cloning and characterization of an androgen-induced growth factor essential for the androgen-dependent growth of mouse mammary carcinomas. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:8928-8932.

CHROMOSOMAL LOCATION

Human *FGF1* is mapped to 5q21. Fgf1 mouse mapping to 19B3.

DIAGNOSTIC

FGF-1 B-3 recognizes both the isoforms of FGF-1. For further information, visit the FGF-1 on human map.

PRODUCT

1.0 µg of antibody dissolved in 1.0 ml of TBST with 0.1% sodium azide and 0.02% BSA.

STORAGE

Store at 4°C. Do NOT FREEZE. Shipper for use year from the date of shipment. Non-hazardous. No MSDS required.

RESEARCH USE

For research use only. Not for use in diagnostic procedures.

APPLICATIONS

Fgf-1 B-3 is recommended for detection of FGF-1 by the use of immunoblotting or by Western Blotting starting dilution 1:1000, dot blot range 1:100-1:10000, immunoprecipitation (1-2 µg per 100-500 µg of total extract/ml of cell lysate), immunofluorescence, starting dilution 1:50, dot blot range 1:50-1:500, immunocytochemistry (including paraffin embedded sections) starting dilution 1:50, dot blot range 1:50-1:500 and solid phase ELISA starting point on 1:30, dilution range 1:30-1:3000.

Suitable for use as control antibody for FGF-1 shRNA (ref. sc-39414), FGF-1 shRNA (ref. sc-39425), FGF-1 shRNA Plasmid (ref. sc-39414), FGF-1 shRNA Plasmid (ref. sc-39445), SH-FGF-1 shRNA (ref. sc-39414), Particulate FGF-1 and FGF-1 shRNA (ref. sc-39414).

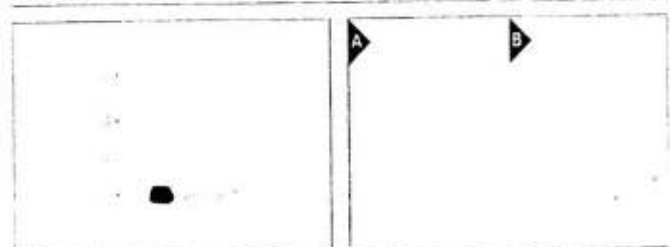
Molecular Weight of FGF-1: 15.5 kDa

Positive Controls: Human pancreatic tumor

RECOMMENDED SECONDARY REAGENTS

To ensure optimal results, the following support reagents and reagents are recommended: 1. Western Blotting, use goat anti-mouse IgG sc-2026, dot blot range 1:1000-1:32,000 or Donor Marker™ normal donkey anti-mouse IgG HRP sc-2031 (dot blot range 1:2000-1:5000), Donor Marker™ Molecular Weight Standards, sc-2035, TBS Block/A Blocking Reagent, sc-2333 and Western Blotting Luminol Reagent, sc-2048. 2. Immunoprecipitation, use Protein A/G PLUS-Agrose, sc-2003 (0.5 mg/agrose, 2.0 ml), 3. Immunofluorescence, use goat anti-mouse IgG HRP sc-2026, dilution range 1:100-1:200 (optimal dilution see IgG sc-2026 Technical Manual), 4:100-1:400, with UltraCruz™ Morning Medium, sc-2041. 5. In situ histochemistry, use ImmunoCruz™ sc-2050 or ABC, sc-2017 (see ABC Staining Systems).

DATA



Western blot analysis of human pancreatic tumor. Lane A: human pancreatic tumor (positive control). Lane B: human pancreatic tumor (negative control). Molecular weight markers are indicated on the left.

PREPARED BY

Dr. Scott A. Stiles, Santa Cruz Biotechnology, Inc. For detailed protocols and support products.

Lampiran 3

GAMBAR DAN SPESIFIKASI Laser Semikonduktor Al Ga In P



Al Ga In P SEMICONDUCTOR LASER CURE INSTRUMENT GX-1000

Specification

- Power supply : AC 85V - 265 V, 50Hz - 60Hz or DC 9V
- Laser type : Al Ga In P Semiconductor Laser
- Wavelength : 650nm-680nm
- Output power : 0-6mW (continuously adjustable)
- Rated power : <3W
- Pulse frequency : 10-80 times/minutes
- Time setting : 1-99 minutes

It is made using semiconductor laser with longer lifetime. It is designed to be shockproof, weightsizes are small. The operation is simple with small consumption of electricity as well as good working safety. Laser transmission structure is specially designed, so there is no optical fiber damage problem. It may fit with Once-using Optical Fiber Needle for intra-vascular irradiation treatment. It may fit with Laser Head Cover for nose cavity irradiation. It may fit with magneto-sucking head for outer body or acu-point irradiation (The treatment mechanism is similar to acupuncture) It is controlled by microcomputer with LED display. The function is complete with simple operation. It has two working modes: continuouspulsed, which can be chosen according to different treatment requirement. Range of indication for treatment on cerebralcardiac vascular diseases, cerebral infarction, psoriasis, abrupt deafness etc. Treatment mechanism when the semiconductor laser beam with wavelength of 650nm~680nm is guided by Optical Fiber Needle through I.V. Catheter directly into blood vessel for circulative blood irradiation, the molecular structure of protein (enzymeother functional protein) can be changed. Due to energy conversion of photo-chemical effects, the body can receive series of biochemical effects, which are: to improve hemorrheological properties (decrease whole blood viscosity, plasma viscosity, thrombocyte accumulative abilityred blood cell accumulative ability ,increase red blood cell metabolic ability), to decrease blood solidification, restrain formation of thrombus, improve blood circulation, especially micro-circulation To regulate immune status (including humoral immunitycellular immunity), raise anti-disease ability of the body. It is beneficial for recovery of the patient suffered infectious diseases or metamorphism immunity. To detoxify, raise SOD activity (this enzyme can eliminate free radical the body), reduce level of molecular substance (MMS) reduce accumulation of poisonous substances, thus protecting body the damage caused by free radical, MMS other toxicity substance. So it has non-specific extensive therapeutic effect.

Lampiran 4

Tekhnik Pemrosesan Jaringan dengan Tekhnik Rutin

(Martoprawiro, 1996; Sudiana, 2008)

1. Melakukan proses fiksasi, dehidrasi, *clearing* dan impregnasi dengan cara mencelupkan jaringan ke dalam larutan berikut selama waktu yang ditentukan.

Tabung	Larutan	Waktu	Proses
1	Formalin 10%	12 – 18 Jam	Fiksasi
2	Etanol 70%	1 Jam	Dehidrasi
3	Etanol 80%	1 Jam	Dehidrasi
4	Etanol 95%	2 Jam	Dehidrasi
5	Etanol 95%	1 Jam	Dehidrasi
6	Etanol absolut	1 Jam	Dehidrasi
7	Etanol absolut	1 Jam	Dehidrasi
8	Etanol absolut	1 Jam	Dehidrasi
9	Xylol	1 Jam	Clearing
10	Xylol	1 Jam	Clearing
11	Xylol	2 Jam	Clearing
12	Parafin cair (56-58 °C)	2 Jam	Impregnasi
13	Parafin cair (56-58 °C)	2 Jam	Impregnasi
14	Parafin cair (56-58 °C)	2 Jam	Impregnasi

2. *Embedding* dan penyayatan jaringan dengan mikrotom.
 - a. Alat cetak dari logam berbentuk siku-siku disusun di atas permukaan kaca yang telah diolesi gliserin. Penggunaan gliserin untuk mempermudah pemisahan alat cetak dari blok parafin yang sudah beku.
 - b. Dua tempat parafin cair, yaitu parafin sebagai bahan *embedding* dan parafin sebagai media penyesuaian temperatur jaringan yang akan ditanam, dipersiapkan dengan temperatur optimum tetapi tidak mengembangkan alat cetak blok.
 - c. Parafin cair pada tempat pertama dituangkan ke dalam alat cetak hingga penuh pada permukaannya, lalu jaringan ditanam pada posisi yang sesuai dengan bagian permukaan jaringan yang menempel pada kaca diusahakan rata.

- d. Alat cetak dilepas bila parafin sudah cukup keras, lalu blok jaringan diberi label dan siap disayat.
- e. Blok parafin tadi ditempelkan pada alat pemegangnya yang berupa lempengan logam yang sudah dipanasi. Perhatikan sisi blok mana yang akan dipotong, kemudian didinginkan pada suhu kamar agar melekat erat.
- f. Pisau mikrotom dipasang pada pegangan mikrotom membentuk sudut 5-10°. Pisau harus selalu tajam dan permukaannya rata benar.
- g. *Water bath* dipersiapkan dengan mengatur suhu air di bawah titik leleh parafin ($\pm 48^{\circ}\text{C}$).
- h. Blok yang sudah menempel pada pemegangnya dipasang pada mikrotom dan siap dilakukan pemotongan tipis dengan ketebalan yang dikehendaki, umumnya 4-8 mikron.
- i. Hasil pemotongan berupa pita tipis dengan hati-hati dipindahkan ke dalam *water bath* agar sayatan jaringan mengembang dengan baik.
- j. Sayatan diseleksi dan dipindahkan ke atas kaca obyek dengan telah diolesi dengan *egg albumin* (putih telur) atau *poly L-lysin* sebagai bahan perekatnya dan sudah diberi label pada blok.
- k. Sediaan dibiarkan kering dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu optimum ($58-60^{\circ}\text{C}$) selama 30 menit, dan sediaan siap dicat.

Lampiran 5

Tekhnik Pengecatan Hematoxyllin Eosin (HE) Progresif
(Sudiana, 2008)

- 1) Sediaan dicelup dalam larutan xylol bak 1 selama 2 menit.
- 2) Pindahkan dalam larutan xylol II selama 2 menit.
- 3) Dalam alkohol absolut 2 bak, bak I dan bak II, masing-masing 1 menit.
- 4) Dalam alkohol 95% 2 bak, bak I dan bak II, masing-masing 1 menit.
- 5) Cuci dalam air mengalir selama 10 menit.
- 6) Masukkan dalam larutan mayer hemotoxillin selama 15 menit.
- 7) Cuci kembali dengan air.
- 8) Masukkan ke dalam eosin antara 15 detik sampai 2 menit.
- 9) Masukkan dalam alkohol 95% 2 bak, bak I dan bak II, masing-masing 1 menit.
- 10) Dalam alkohol absolut 3 bak, bak I, bak II, dan bak III, masing-masing 2 menit.
- 11) Terakhir dalam xylol bak I, bak II, dan bak III, masing-masing 2 menit.
- 12) *Mounting.*

Lampiran 6

Teknik Pengecatan Imunohistokimia

(Sudiana, 2008)

Persiapan :

- a) Jaringan dipotong setebal ± 4 mikron, ditempelkan pada *object glass poly L-lysine*.
- b) Panaskan preparat pada *hot plate* dengan suhu 65°C selama 30 menit, sebelum deparafinisasi.
- c) Antibodi primer diencerkan 1 : 100.
- d) Pencampuran DAB yaitu 1 tetes DAB : 1 ml *chromogen substrate*, campuran ini hanya bisa digunakan dalam waktu 2 minggu.
- e) Persiapan alat yang digunakan dalam keadaan bersih.

Prosedur Pewarnaan Imunohistokimia Indirect:

- a) Deparafinisasi dengan xylol selama 2 menit diulang 2x.
- b) Hidrasi dengan etanol absolut selama 1 menit diulang 2x \rightarrow etanol 99% selama 1 menit diulang 2x \rightarrow etanol 80% selama 1 menit \rightarrow etanol 70% selama 1 menit \rightarrow air mengalir selama 10-15 menit.
- c) Inkubasi dalam H_2O_2 3% selama 30 menit.
- d) Cuci dengan larutan PBS selama 2 menit diulang 3x.
- e) Inkubasi dalam Tripsin 0,025% selama 6 menit pada 37°C .
- f) Cuci dengan larutan PBS selama 2 menit diulang 3x.
- g) Inkubasi dalam antibodi monoklonal (anti-mouse EGF / FGF 1 : 100) selama 30-60 menit.
- h) Cuci dengan larutan PBS selama 2 menit diulang 3x.
- i) Inkubasi dengan secondary antibody selama 30 menit.
- j) Cuci dengan larutan PBS selama 2 menit diulang 3x.
- k) Inkubasi dalam streptavidin-HRP selama 30 menit.
- l) Cuci dengan larutan PBS selama 2 menit diulang 3x.
- m) Inkubasi dalam *DAB-Chromogen* selama 5-10 menit.
- n) Cuci dengan larutan PBS selama 2 menit diulang 3x.

- o) Cuci dengan aquadestilata selama 5 menit.
- p) Inkubasi dalam Meyer Hematoxyllin selama 10-15 menit.
- q) Cuci dengan air sampai berwarna biru.
- r) Dehidrasi – *clearing* - *mounting*.