

DAFTAR ISI

| | |
|---|------|
| HALAMAN JUDUL..... | i |
| HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | iv |
| HALAMAN PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI | v |
| KATA PENGANTAR | vi |
| DAFTAR ISI..... | x |
| DAFTAR TABEL..... | xii |
| DAFTAR GAMBAR | xiii |
| DAFTAR SINGKATAN | xvi |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xix |
| INTISARI..... | xx |
| ABSTRACT..... | xxi |
| I. PENDAHULUAN | 1 |
| A. Latar Belakang Masalah..... | 1 |
| B. Perumusan Masalah..... | 6 |
| C. Tujuan Penelitian..... | 6 |
| D. Manfaat Penelitian..... | 7 |
| E. Keaslian Penelitian..... | 7 |
| II. TINJAUAN PUSTAKA | 10 |
| A. Telaah Pustaka..... | 10 |
| 1. Kulit..... | 10 |
| 2. Luka dan Proses Penyembuhan Luka..... | 13 |
| 3. <i>Dressing</i> Luka yang Ideal..... | 26 |
| 4. Kepompong Ulat Sutera (<i>Bombyx mori</i>) sebagai Alternatif Bahan <i>Dressing</i> Luka | 30 |
| 5. Makrofag | 36 |
| 6. Ekspresi <i>Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)</i> | 50 |
| 7. Tikus <i>Wistar</i> | 64 |
| B. Landasan Teori..... | 69 |
| C. Kerangka Penelitian | 73 |
| D. Hipotesis..... | 74 |

| | |
|---|-----|
| III. METODE PENELITIAN..... | 75 |
| A. Jenis Penelitian..... | 75 |
| B. Subjek Penelitian..... | 75 |
| C. Lokasi Penelitian..... | 78 |
| D. Alat dan Bahan Penelitian..... | 78 |
| E. Identifikasi Variabel Penelitian..... | 80 |
| F. Definisi Operasional..... | 82 |
| G. Jalannya Penelitian..... | 83 |
| H. Analisis Data..... | 96 |
| I. Etika Penelitian..... | 97 |
| J. Skema Alur Penelitian..... | 98 |
| IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN | 99 |
| A. HASIL PENELITIAN..... | 99 |
| B. PEMBAHASAN..... | 109 |
| V. KESIMPULAN DAN SARAN..... | 121 |
| A. KESIMPULAN..... | 121 |
| B. SARAN..... | 121 |
| DAFTAR PUSTAKA | 122 |
| LAMPIRAN..... | 148 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | | Halaman |
|-----------|--|---------|
| Tabel 1. | Keaslian penelitian | 8 |
| Tabel 2. | Tipe-tipe bahan <i>dressing</i> luka (Nuget dkk., 2018) | 28 |
| Tabel 3. | Molekul <i>marker</i> yang diproduksi oleh makrofag tikus dan manusia (Kloc dkk., 2019) | 41 |
| Tabel 4. | Molekul <i>marker</i> yang diproduksi oleh makrofag yang terlibat dalam inflamasi, perbaikan jaringan dan regenerasi (pemulihan) sebagai target yang mungkin untuk intervensi terapeutik dalam penyembuhan luka yang tertunda dan jaringan parut yang berlebihan (Kloc dkk., 2019) | 42 |
| Tabel 5. | Karakteristik kulit manusia dan hewan (Ansell dkk., 2011) | 66 |
| Tabel 6. | Rerata dan simpangan baku (SD) jumlah sel makrofag jaringan ikat tepi luka dalam setiap kelompok perlakuan berdasarkan lama aplikasi <i>wound dressing</i> pasca luka eksisi | 102 |
| Tabel 7. | Analisis statistik <i>Two-way ANOVA</i> perbedaan jumlah sel makrofag jaringan ikat tepi luka antar waktu pengamatan, antar kelompok perlakuan serta antara waktu pengamatan dan kelompok perlakuan | 103 |
| Tabel 8. | <i>Independent T-test</i> perbedaan jumlah sel makrofag antara kelompok kontrol dan perlakuan berdasarkan waktu pengamatan | 104 |
| Tabel 9. | Rerata dan simpangan baku (SD) jumlah ekspresi VEGF pada sel-sel inflamasi area luka dalam setiap kelompok perlakuan berdasarkan lama aplikasi <i>wound dressing</i> pasca luka eksisi | 106 |
| Tabel 10. | Analisis statistik <i>Two-way ANOVA</i> perbedaan jumlah ekspresi VEGF pada sel-sel inflamasi area luka antar waktu pengamatan, antar kelompok perlakuan serta antara waktu pengamatan dan kelompok perlakuan | 107 |
| Tabel 11. | <i>Independent T-test</i> perbedaan jumlah ekspresi VEGF pada sel-sel inflamasi area luka antara kelompok kontrol dan perlakuan berdasarkan waktu pengamatan | 108 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | | Halaman |
|------------|--|---------|
| Gambar 1. | Morfologi kulit pada hewan dan tikus (Zomer dan Trentin, 2018) | 11 |
| Gambar 2. | Empat fase perbaikan luka (Olivier dkk., 2017) | 17 |
| Gambar 3. | Penyembuhan luka pada kulit: Sel makrofag mulai terinduksi pada fase awal inflamasi dan jumlahnya terus meningkat. Makrofag pada area luka, bersama dengan sel keratinosit dan fibroblas, memproduksi VEGF (Zomer dan Trentin, 2018) | 18 |
| Gambar 4. | Fase penyembuhan luka (Li dkk., 2007) | 19 |
| Gambar 5. | Pembentukan bekuan darah: terbentuknya jaringan fibrin mikrotrombin melalui perlekatan platelet ke sel endotelial dan selanjutnya mediator vasoaktif dan kemotaktis diproduksi menuju permukaan luka (Mackman dkk., 2007) | 21 |
| Gambar 6. | Pertunasan pembuluh darah baru. Proses angiogenesis ini terjadi melalui tahap inisiasi dan stabilisasi (Kumar dkk., 2014) | 24 |
| Gambar 7. | Sifat dari <i>dressing</i> luka yang ideal (Negut dkk., 2018) | 29 |
| Gambar 8. | Hirarki morfologi dari kepompong <i>Bombyx mori</i> (Chen dkk., 2012) (Ukuran skala dari kiri ke kanan: 1 cm, 200 μ m, 20 μ m, 10 μ m) | 31 |
| Gambar 9. | Proses yang digunakan untuk aplikasi komposit kepompong sebagai bahan <i>dressing</i> luka (Liu dkk., 2017) | 32 |
| Gambar 10. | Ilustrasi proses sintesis SCSF dan aplikasinya sebagai bahan <i>dressing</i> luka (Yu dkk., 2017) | 34 |
| Gambar 11. | Ilustrasi rute sintesis SCWF dan penggunaan kombinasi SCWF-AgNPs sebagai bahan <i>dressing</i> luka (Yu dkk., 2017) | 35 |

| | | |
|------------|--|-----|
| Gambar 12. | <i>Marker</i> makrofag penyembuhan luka pada tikus pada fase awal dan akhir perekrutan (Kloc dkk., 2019) | 39 |
| Gambar 13. | Peran makrofag dalam homeostasis kulit (Yanez dkk., 2017) | 50 |
| Gambar 14. | Struktur VEGF yang berbentuk pita: a. ikatan monomer; b. ikatan dimer (Muller dkk., 1997) | 52 |
| Gambar 15. | Mitra pengikat VEGF-VEGFR (Johnson dan Wilgus, 2014) | 55 |
| Gambar 16. | Pensinyalan VEGF (Johnson dan Wilgus, 2014) | 55 |
| Gambar 17. | Sumber selular dan aksi VEGF selama penyembuhan luka (Johnson dan Wilgus, 2014) | 57 |
| Gambar 18. | Produksi VEGF pada luka kulit (Johnson dan Wilgus, 2014) | 57 |
| Gambar 19. | Alur kerangka penelitian | 73 |
| Gambar 20. | Proses pembuatan <i>film dressing</i> dari kepompong ulat sutera (<i>Bombyx mori</i>) (Yu dkk., 2007) | 84 |
| Gambar 21. | Luka eksisi pada kulit punggung tikus dengan alat <i>punch biopsy</i> | 86 |
| Gambar 22. | Aplikasi <i>film dressing</i> dari kepompong ulat sutera (<i>Bombyx mori</i>) | 87 |
| Gambar 23. | Foto mikroskopik gambaran histologi sel makrofag (panah hitam) pada pewarnaan HE dengan perbesaran 40x, terlihat lebih banyak jumlah sel makrofag pada H+6 dibandingkan H+3 | 101 |
| Gambar 24. | Rerata jumlah sel makrofag jaringan ikat tepi luka pada kelompok kontrol (kasa yang dibasahi larutan NaCl fisiologis) dan kelompok perlakuan (diberi aplikasi <i>wound dressing</i> kepompong ulat sutera) pasca eksisi kulit punggung tikus <i>Wistar</i> jantan berdasarkan waktu pengamatan | |

- Gambar 25. Foto mikroskopik gambaran histologi ekspresi VEGF (panah pink menunjukkan VEGF imunoreaktif kuat, panah hijau dengan imunoreaktif sedang, dan panah biru dengan imunoreaktif lemah) pada penyembuhan luka eksisi kulit punggung tikus *Wistar* dengan perbesaran 40x dan 400x 105
- Gambar 26. Rerata jumlah ekspresi VEGF pada sel-sel inflamasi area luka pada kelompok kontrol (kasa yang dibasahi larutan NaCl fisiologis) dan kelompok perlakuan (diberi aplikasi *wound dressing* kepompong ulat sutera) pasca eksisi kulit punggung tikus *Wistar* jantan berdasarkan waktu pengamatan 107
- Gambar 27. Keberadaan sel makrofag pada fase-fase inflamasi penyembuhan luka (Aitcheson dkk., 2021 sit. Rodero dkk., 2013) 116

DAFTAR SINGKATAN

| | |
|-------------------------------------|--|
| AGEs | <i>Advanced glycation end products</i> |
| AgNPs | <i>Ag Nanoparticles</i> |
| ANOVA | <i>Analysis of variance</i> |
| AREG | <i>Amphiregulin</i> |
| Arg-1 | <i>Arginase-1</i> |
| ATF3 | <i>Activating transcription factor 3</i> |
| bFGF | <i>Basic fibroblast growth factor</i> |
| CCL1 | <i>C-C motif chemokine ligand 1</i> |
| CCL2 | <i>C-C motif chemokine ligand 2</i> |
| CCL22 | <i>C-C motif chemokine ligand 22</i> |
| CCR2 | <i>C-C motif chemokine reseptor 2</i> |
| CCR2 ⁺ Ly6C ⁺ | <i>C-C motif chemokine reseptor 2 lymphocyte antigen 6</i> |
| CD14 | <i>Cluster of differentiation 14</i> |
| CD16 | <i>Cluster of differentiation 16</i> |
| CD23 | <i>Cluster of differentiation 23</i> |
| CD80 | <i>Cluster of differentiation 80</i> |
| CD163 | <i>Cluster of differentiation 163</i> |
| CD206 | <i>Cluster of differentiation 206</i> |
| CD209 | <i>Cluster of differentiation 209</i> |
| CM | <i>Conditioned medium</i> |
| CSF1R | <i>Colony stimulating factor 1 receptor</i> |
| CX3CL1 | <i>C-X3-C motif chemokine ligand 1</i> |
| CX3CR1 | <i>C-X3-C motif chemokine receptor 1</i> |
| ECM | <i>Extracellular matrix</i> |
| EDTA | <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i> |
| EGF | <i>Epidermal growth factor</i> |
| EMPs | <i>Erythro-myeloid progenitors</i> |
| EOG | <i>Ethylene oxyde gas</i> |
| Fra-1 | <i>Fos-related antigen-1</i> |
| FGF | <i>Fibroblast growth factor</i> |
| Fizz1 | <i>Found in inflammatory zone-1</i> |
| FKH | <i>Fakultas Kedokteran Hewan</i> |
| Gal-3 | <i>Galectin-3</i> |
| GR | <i>Glucocorticoid receptor</i> |
| GTPase | <i>Guanosine-5'-triphosphate</i> |

| | |
|----------------|--|
| hAMTCs | <i>Human amniotic mesenchymal cells</i> |
| HIF-1 α | <i>Hypoxia-inducible factor-1 alpha</i> |
| HRP | <i>Horseradish peroxidase</i> |
| HSC | <i>Hematopoietic stem cell</i> |
| HSPG | <i>Heparin sulfate proteoglycan</i> |
| IACUC | <i>Institutional Animal Care and Use Committee</i> |
| IFN γ | <i>Interferon gamma</i> |
| IGF-1 | <i>Insulin-like growth factor-1</i> |
| IHC | <i>Immunohistochemistry</i> |
| IL-1 | <i>Interleukin-1</i> |
| IL1- β | <i>Interleukin-1 beta</i> |
| IL-4 | <i>Interleukin-4</i> |
| IL-6 | <i>Interleukin-6</i> |
| IL-10 | <i>Interleukin-10</i> |
| IL-13 | <i>Interleukin-13</i> |
| iNos | <i>Inducible nitric oxide synthase</i> |
| IRF4 | <i>Interferon regulator factor 4</i> |
| IRF5 | <i>Interferon regulator factor 5</i> |
| KGf | <i>Keratinocyte growth factor</i> |
| KPH | <i>Kesatuan Pengelolaan Hutan</i> |
| LPPT | <i>Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu</i> |
| LPS | <i>Lipopolysaccharide</i> |
| LXR | <i>Liver X receptor</i> |
| Ly6C | <i>Lymphocyte antigen 6</i> |
| M0 | <i>Makrofag residen</i> |
| M1 | <i>Makrofag pro inflamasi</i> |
| M2 | <i>Makrofag anti inflamasi</i> |
| MAPK | <i>Mitogen-activated protein kinases</i> |
| MIP-1 α | <i>Macrophage inflammatory protein-1 alpha</i> |
| MMP-1 | <i>Matrix metalloproteinase-1</i> |
| MMP-2 | <i>Matrix metalloproteinase-2</i> |
| MMP-9 | <i>Matrix metalloproteinase-9</i> |
| MMP-10 | <i>Matrix metalloproteinase-10</i> |
| Mrc1 | <i>Mannose receptor C type 1</i> |
| Mrc2 | <i>Mannose receptor C type 2</i> |
| NO | <i>Nitric oxide</i> |
| NRPs | <i>Neuropilins</i> |

| | |
|----------------|---|
| PAF | <i>Platelet activating factor</i> |
| PAU | <i>Pusat Antar Universitas</i> |
| PDGF | <i>Platelet derived growth factor</i> |
| PIGF | <i>Placental growth factor</i> |
| PMN | <i>Polymorphonuclear neutrophile</i> |
| PPAR γ | <i>Peroxisome proliferator-activated receptor gamma</i> |
| PSPG | <i>Pusat Studi Pangan dan Gizi</i> |
| RAGE | <i>Receptor for advanced glycation end products</i> |
| Relm- α | <i>Resistin-like molecule-alpha</i> |
| RhoA | <i>Ras homolog gene family member A</i> |
| ROS | <i>Reactive oxidative stress</i> |
| SCSF | <i>Silkworm cocoon sol-gel film</i> |
| SCWF | <i>Silkworm cocoon wound film</i> |
| SOCS1 | <i>Suppressor of cytokine signaling 1</i> |
| SOCS3 | <i>Suppressor of cytokine signaling 3</i> |
| STAT1 | <i>Signal transducer and activator of transcription 1</i> |
| STAT3 | <i>Signal transducer and activator of transcription 3</i> |
| STAT6 | <i>Signal transducer and activator of transcription 6</i> |
| sVEGF | <i>Soluble vascular endothelial growth factor</i> |
| TBSA | <i>Total body surface area</i> |
| TGF | <i>Transforming growth factor</i> |
| TGF- α | <i>Transforming growth factor alpha</i> |
| TGF β | <i>Transforming growth factor beta</i> |
| TGF- β 1 | <i>Transforming growth factor beta 1</i> |
| TNF- α | <i>Tumor necrosis factor alpha</i> |
| VEGF | <i>Vascular endothelial growth factor</i> |
| VEGF- α | <i>Vascular endothelial growth factor alpha</i> |
| VEGF-A | <i>Vascular endothelial growth factor-A</i> |
| VEGF-B | <i>Vascular endothelial growth factor-B</i> |
| VEGF-C | <i>Vascular endothelial growth factor-C</i> |
| VEGF-D | <i>Vascular endothelial growth factor-D</i> |
| VEGF-R1 | <i>Vascular endothelial growth factor receptor-1</i> |
| VEGF-R2 | <i>Vascular endothelial growth factor receptor-2</i> |
| VEGF-R3 | <i>Vascular endothelial growth factor receptor-3</i> |
| VPF | <i>Vascular permeability factor</i> |
| Wnt | <i>Wingless type</i> |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | | Halaman |
|-------------|---|---------|
| Lampiran 1. | Keterangan kelaikan etik (<i>Ethical clearance</i>) | 148 |
| Lampiran 2. | Foto-foto jalannya penelitian | 149 |
| Lampiran 3. | Data monitoring harian berat badan subyek penelitian | 154 |
| Lampiran 4. | Foto preparat hasil pengecatan dengan pewarnaan HE untuk menghitung jumlah makrofag | 155 |
| Lampiran 5. | Foto preparat hasil pengecatan dengan pewarnaan IHC untuk menghitung jumlah ekspresi VEGF | 157 |
| Lampiran 6. | Data hasil perhitungan jumlah sel makrofag | 159 |
| Lampiran 7. | Data hasil perhitungan ekspresi VEGF | 164 |
| Lampiran 8. | Analisis data jumlah sel makrofag | 167 |
| Lampiran 9. | Analisis data jumlah ekspresi VEGF | 170 |