

PENELITIAN ASLI

JUMLAH SEL PMN, MN, FIBROBLAS, ANGIOGENESIS PADA MENCIT DM YANG DIINDUKSI ALLOXAN

Shiva Nur Rahmawaty¹, Suyarta Efrida Pakpahan¹

¹Fakultas Kesehatan, Institut Kesehatan Rajawali
Jl. Rajawali Barat No.38, Maleber, Kec. Andir, Kota Bandung, Jawa Barat 40184, Indonesia

Info Artikel

Riwayat Artikel:
Diterima: 07 Oct 2024
Direvisi: 02 Nov 2024
Diterima: 09 Nov 2024
Diterbitkan: 23 Des 2024

**Kata kunci: Angiogenesis;
Diabetes; Fibroblas; MN; PMN**

Penulis Korespondensi: Shiva Nur
Rahmawaty
Email: shvnrh@gmail.com

Abstrak

Luka diabetes dapat digolongkan sebagai luka kronis akibat respon inflamasi yang memanjang. Proses penyembuhan luka pada penderita DM menjadi abnormal atau lebih lama karena terjadi inflamasi persisten. Untuk menganalisis proses penutupan luka DM dan menghitung jumlah sel yang terlibat dalam proses penyembuhan luka, yaitu PMN, MN, Fibroblas, dan Angiogenesis pada hari ke 3, 7, 14, dan 21. Penelitian ini menggunakan desain eksperimental dengan 24 ekor mencit jantan, dibagi menjadi kelompok DM dan sehat sebagai pembandingan sebanyak tiga kali pengulangan. Dilakukan pengukuran luas (makroskopis), processing histologi (pewarnaan HE), dan menghitung jumlah sel PMN, MN, Fibroblas, Angiogenesis (Mikroskopis) pada hari ke 3, 7, 14, dan 21. Analisis data dilakukan uji Two-way Anova menggunakan GraphPad Prism 10. Pengamatan makroskopis menunjukkan kelompok sehat mengalami penutupan luka lebih cepat dibanding DM $p < 0,001$ (***) . Pada pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa PMN MN meningkat pada fase inflamasi hingga remodelling pada kelompok DM $p < 0,001$ (***) . Penelitian menunjukkan bahwa luka makroskopis pada mencit sehat menutup lebih cepat dibandingkan luka DM. Secara mikroskopis, kondisi histopatologi pada luka sehat lebih cepat melewati fase penyembuhan luka dibanding luka DM.

Jurnal Analis Laboratorium Medik
E.ISSN: 2527-712X
Vol. 9 No. 2 Desember 2024 (Hal 119-132)

Homepage: <https://e-journal.sari-mutiara.ac.id/index.php/ALM>
DOI: <https://doi.org/10.51544/jalm.v9i2.5356>

How to cite: Rahmawaty SN, Efrida Pakpahan S. Shiva Jumlah Sel PMN, MN, Fibroblas, Angiogenesis Pada Mencit Dm Yang Diinduksi Alloxan. JALM [Internet]. 2024 Dec. 23 [cited 2024 Dec. 23];9(2):119-32. Available from: <https://e-journal.sari-mutiara.ac.id/index.php/ALM/article/view/5356>



Copyright © 2024 by the Authors, Published by Program Studi: D3 Analis Kesehatan Fakultas Pendidikan Vokasi Universitas Sari Mutiara Indonesia. This is an open access article under the CC BY-SA Licence ([Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)).

1. Pendahuluan

Luka merupakan rusaknya struktur dan fungsi anatomi normal pada kulit. Keadaan ini dapat terjadi secara sengaja atau tidak sengaja, maupun dari proses penyakit (Barung et al., 2021). Luka dapat dibedakan berdasarkan waktu penyembuhan yaitu luka akut dan kronis. Luka dikatakan akut jika penyembuhan terjadi dalam 2-3 minggu. Sedangkan luka kronis terjadi dalam waktu lebih dari 4- 6 minggu (Yunus, 2019). Salah satu jenis luka yaitu luka insisi yang disebabkan karena terpotongnya jaringan oleh benda tajam (Irwandi et al., 2022). Luka insisi merupakan salah satu luka terbuka yang dapat dikategorikan kronis ketika mengalami keterlambatan penyembuhan atau menunjukkan tanda- tanda infeksi karena kontaminasi bakteri (Samirana et al., 2022).

Luka kronis yang disebabkan oleh penyakit DM dapat menyebabkan penutupan luka dalam jangka waktu lama, penyebabnya ialah tingginya kadar gula dalam darah yang menjadi tempat untuk pertumbuhan kuman sehingga luka mudah berkembang menjadi infeksi (Dewi, 2018). Luka yang terjadi pada kondisi DM membutuhkan waktu lebih lama untuk sembuh karena gangguan respon inflamasi, gangguan pembentukan jaringan granulasi, gangguan angiogenesis dan gangguan apoptosis sel fibroblast. Peristiwa penyembuhan luka terbagi dalam fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase *remodelling* yang merupakan fase akhir proses penutupan luka (Palupi et al., 2022).

DM merupakan kondisi kronis yang ditandai dengan hiperglikemia akibat gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang disebabkan karena tubuh tidak mampu memproduksi insulin yang cukup atau sel-sel dalam tubuh tidak mampu memproduksi insulin secara efektif (Raharjo et al., 2022). Diabetes Melitus (DM) merupakan salah satu penyakit yang jumlah penderitanya memiliki angka prevalensi yang cukup tinggi. International Diabetes Federation (IDF) memprediksi pada tahun 2030-2045 terjadi peningkatan 21% pasien mengalami DM dan 13-14% pasien cenderung mengalaminya sepanjang hidup. DM dapat dikenal sebagai “the great imitator” karena dapat menyebabkan komplikasi secara akut ataupun kronis. Salah satu komplikasi kronis yang terjadi yaitu pada kondisi luka terbuka ulkus diabetikum dimana pada kondisi ini disebabkan oleh komplikasi makroangiopati yaitu terjadinya aliran darah yang tidak mencukupi jaringan tubuh (infisiensi vaskuler) dan kerusakan saraf (neuropati) yang membuat luka sulit sembuh dan rentan terhadap infeksi (Cahyaningtyas & Werdiningsih, 2022).

Penyembuhan luka merupakan proses kompleks yang melibatkan berbagai proses seluler, fisiologis, biokimia, dan molekuler dengan tujuan mengembalikan fungsi jaringan yang rusak menjadi kondisi normal. Luka terbuka terbentuk akibat kerusakan pada epidermis dan hilangnya jaringan dibawahnya. Ketika terjadi luka pada kulit, secara otomatis tubuh akan memulai proses penyembuhan dan regenerasi sel sebagai respons fisiologis akan memulai proses penyembuhan luka, namun pada penderita DM proses penyembuhan luka terganggu akibat hiperglikemia dan resistensi insulin. Hiperglikemia memicu berbagai jalur sinyal metabolik yang menyebabkan peradangan, sekresi sitokin, kematian sel, dan mengakibatkan komplikasi DM (Wulandari, 2020).

Pada saat terjadi luka, tubuh merespon dengan kondisi peradangan atau inflamasi yang ditandai adanya bengkak, kemerahan, panas, nyeri, dan kerusakan fungsi. Tahap awal proses penyembuhan luka diawali dengan pendarahan yang akan mengaktifkan faktor koagulasi yang memicu pembentukan bekuan darah oleh trombosit. Pembuluh darah yang putus akan mengerut sehingga menghentikan pendarahan. Leukosit seperti neutrofil bermigrasi ke area luka untuk melepaskan berbagai faktor inflamasi yang

membantu membersihkan luka dari bakteri yang dapat membantu penyembuhan luka (Astuti et al., 2020). Selanjutnya terjadi tahap proliferasi yang bertujuan menyeimbangkan pembentukan bekuan darah yang dapat menutup luka dengan regenerasi jaringan baru. Pada tahap remodelling jaringan baru akan terbentuk untuk mengisi luka hingga menutup secara sempurna (Primadina et al., 2019). Salah satu hewan yang dapat dikondisikan agar hewan tersebut dapat diabetes adalah mencit karena hewan mencit patofisiologinya mirip dengan manusia jadi dalam hal ini dijadikan diabetes.

Sebanyak 40% studi menggunakan mencit sebagai model laboratorium (Mutiarahmi et al., 2021). Mencit sering kali digunakan dalam penelitian di laboratorium yang berkaitan dengan bidang fisiologi, farmakologi, patologi maupun histopatologi. Mencit banyak digunakan sebagai hewan uji laboratorium karena memiliki kelebihan seperti siklus hidup yang relatif pendek, banyaknya jumlah anak per kelahiran, mudah ditangani, memiliki karakteristik reproduksinya mirip dengan hewan mamalia lain, struktur anatomi serta genetik yang mirip dengan manusia (Herrmann, 2019). Penggunaan *alloxan* sebagai alternatif untuk menjadikan mencit dalam kondisi DM. *Alloxan* merupakan turunan dari asam urat yang secara selektif dapat merusak sel pankreas melalui stress oksidatif yang menyebabkan sel-sel tubuh akan terpapar radikal bebas yang berlebih untuk dapat merusak sel hingga menyebabkan penurunan glikogen pada hati (Husna et al., 2019). Penurunan kadar insulin menyebabkan kondisi hiperglikemik dimana fase hiperglikemik pertama kali terjadi setelah 1 jam pemberian *alloxan* yang berlangsung selama 2-4 jam disebabkan oleh penghambatan sekresi insulin yang menyebabkan hipoinsulinemia. 4-8 jam setelah pemberian *alloxan* terjadi fase degranulasi dan hilangnya integritas sel beta pada 12-48 jam yang pada kondisi ini memasuki fase hiperglikemik diabetes permanen (Noena et al., 2020). Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini akan mengkaji jumlah sel PMN, MN, Fibroblast, dan Angiogenesis pada kondisi luka kronis mencit yang diinduksi *alloxan*.

2. Metode

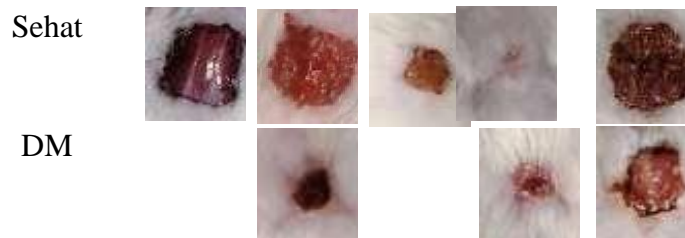
Penelitian ini menggunakan desain eksperimental dengan 24 ekor mencit jantan, dibagi menjadi kelompok DM dan sehat sebagai pembandingan sebanyak tiga kali pengulangan. Dilakukan pengukuran luas (makroskopis), *processing* histologi (pewarnaan HE), dan menghitung jumlah sel PMN, MN, Fibroblas, Angiogenesis (Mikroskopis) pada hari ke 3, 7, 14, dan 21. Analisis data dilakukan uji Two-way Anova menggunakan *GraphPad Prism 10*. Prosedur kerja yang dilakukan pada penelitian ini meliputi adaptasi hewan uji mencit jantan mus musculus bobot 20-30 gram dengan rata-rata usia 2-3 bulan. Mencit diadaptasi selama 7 hari untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan baru, lalu dilakukan pengecekan gula darah awal, induksi *alloxan*, dan pengecekan kadar gula akhir. Pembuatan luka sayat pada punggung mencit diawali dengan pembiusan mencit secara inhalasi menggunakan kloroform, kemudian dibuat luka insisi pada area punggung mencit ukuran 1 x1 cm dengan kedalaman sampai subkutan (keluar darah) menggunakan pisau bedah steril. Setelah tersayat darah diusap dengan tissue kering steril secara perlahan setelah itu dilakukan pengamatan kondisi luka secara makroskopis pada hari ke -3, -7, -14, dan -21 menggunakan alat ukur jangka sorong dan dilakukan pengukuran horizontal dan vertikal untuk mengetahui fase proses penyembuhan luka. Penilaian makroskopis meliputi penurunan diameter luka punggung mencit, kemerahan pada luka, eksudat (pengeluaran cairan dari luka), pendekatan antar tepi luka.

Selanjutnya dilakukan processing jaringan, pewarnaan HE, pengukuran kualitatif (melihat dan mengamati sel) pada preparat histologi jaringan kulit dibawah mikroskop *Olympus CX33* pembesaran 400x dan dilakukan pengukuran kuantitatif (menghitung jumlah sel PMN, MN, Fibroblas, dan Angiogenesis) pada hari ke 3, 7, 14, dan 21. Analisis data dilakukan uji Two-way Anova menggunakan GraphPad Prism 10. Penelitian ini telah dilakukan dengan memperhatikan aspek etika penelitian dan telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan dengan nomor surat [2305060942]. Bukti persetujuan terlampir pada saat pengiriman artikel.

3. Hasil

} Pengamatan Makroskopis

Setiap hewan uji dibuat luka punggung sebesar 10 x 10 cm untuk diukur luas luka punggung menggunakan jangka sorong dan dilakukan pengamatan makroskopis terhadap karakteristik luka punggung mencit DM dan mencit sehat yang dapat dilihat pada gambar 1.

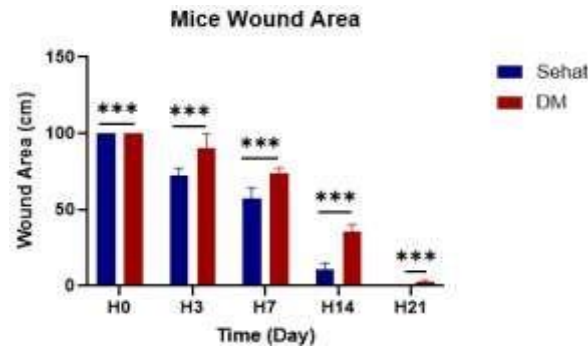


Gambar 1. Hasil Pengamatan Makroskopis Penutupan Luka

Berdasarkan data pada gambar 1. Luka diamati secara makroskopis berdasarkan penutupan lukanya pada hari ke -3, -7, -14, dan -21 sejalan dengan penelitian (Griana et al., 2021). Pada hari ke-0, hasil pengamatan luka pada punggung mencit sehat maupun mencit DM pada hari ke-0 memperlihatkan luka tanpa adanya diameter. Pada hari ke -3 luka pada punggung mencit sehat berubah dari merah menjadi kekuningan dan mulai kering sedangkan pada kelompok DM luka tampak berwarna merah. Pada hari ke -7 luka pada kelompok sehat tampak kering dan kemerahan membentuk granula (keropeng) sedangkan pada kelompok DM tampak basah dan mengeluarkan eksudat. Pada hari ke-14 luka pada kelompok sehat ukuran luka mengalami perubahan yang lebih kecil dari sebelumnya, sedangkan pada kelompok DM eksudat masih terus berlangsung dengan perubahan warna luka menjadi hitam. Pada hari ke-21 luka pada kelompok sehat sudah menutup sedangkan pada kelompok DM baru kering dan menunjukkan adanya granula (keropeng). Hal ini menunjukkan bahwa proses penyembuhan luka pada kelompok DM berjalan lambat dibandingkan dengan kelompok DM. Hal ini dapat dinyatakan bahwa diameter luka mengalami penurunan terbanyak pada kelompok pembanding yaitu mencit sehat dimana mencit tersebut tidak mengalami hiperglikemia. Ukuran luas luka dilakukan Analisa statistik dengan menggunakan *software* GraphPad Prism 10 yang dapat dilihat pada tabel 1 dan gambar 2.

Tabel 1. Hasil Uji Statistik Two-way ANOVA Pengukuran Luka
Two-way ANOVA

Source of Variation	% of total variation	P value	P value summary	Significant
Interaction	0.432	<,001	***	Yes
Times (Days)	0.762	<,001	***	Yes
Treatment	0.145	<,001	***	Yes

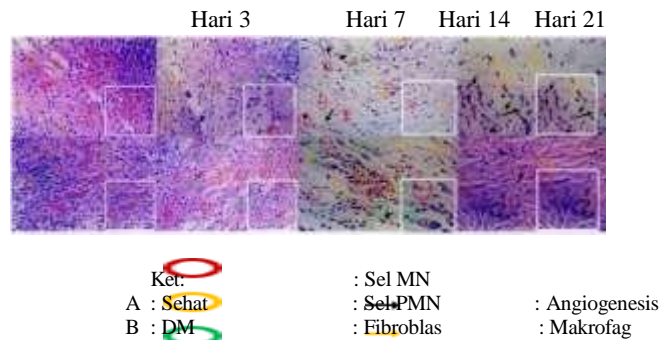


Gambar 2. Grafik Hasil Uji Statistik Pengukuran Luka Berdasarkan Kelompok

Berdasarkan data pada tabel 1. dan gambar 2. menunjukkan penurunan luas luka punggung mencit yang signifikan pada kedua kelompok yaitu kelompok sehat dan kelompok DM dalam proses penutupan luka. Pada hari ke-3 luka pada kedua kelompok menunjukkan ukuran luka yang sama karena luka dibuat pada waktu yang bersamaan. Pada hari ke-7 luka pada kelompok sehat menunjukkan penurunan diameter luka sedangkan luka pada kelompok DM masih menunjukkan diameter luka yang besar. Pada hari ke-14 luka pada kelompok sehat menunjukkan penurunan diameter luka yang lebih besar dibandingkan dengan luka pada kelompok DM. Pada hari ke-21 luka pada kelompok sehat telah menutup, sedangkan luka pada kelompok DM belum menutup sepenuhnya.

Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan mikroskopis dilakukan untuk melihat proses penyembuhan luka berdasarkan kondisi histopatologi dengan menghitung jumlah sel PMN, MN, Fibroblas dan Angiogenesis. Hasil pengamatan makroskopis dapat dilihat pada gambar 3.



Berdasarkan gambar 3. menunjukkan terjadinya fase inflamasi pada

pengamatan preparat histologi kulit hari ke -3 dan -7 yang ditandai dengan adanya sel PMN dan MN pada setiap kelompok. Pada hari ke -14 terjadinya fase proliferasi dimana pada kelompok sehat ditandai dengan munculnya fibroblas, sementara pada kelompok DM sel PMN dan MN masih terus berlanjut. Pada hari ke -21 terjadinya fase *remodelling* dimana pada kelompok sehat ditandai dengan terbentuknya fibroblas dan angiogenesis sementara pada kelompok DM sudah mulai terbentuk fibroblas yang menunjukkan fase proliferasi. Hal tersebut menyebabkan adanya keterlambatan dalam penyembuhan luka pada kondisi DM. Kemudian Jumlah sel PMN, MN, Fibroblas, dan Angiogenesis dilakukan Analisa statistik dengan menggunakan *software* GraphPad Prism 10 yang dapat dilihat pada tabel 2., 3., 4., dan gambar 4., 5., dan 6.

Tabel 4.2 Hasil Uji Statistik Two-way ANOVA Sel Inflamasi

Two-way ANOVA				
Source of Variation	% of total variation	P value	P value summary	Significant
Interaction	2.643	<,001	***	Yes
Times (Days)	4.023	<,001	***	Yes
Treatment	0.9673	<,001	***	Yes

Berdasarkan tabel 2. dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan sel inflamasi (PMN MN) terhadap proses penutupan pada kelompok sehat dan kelompok DM. Berdasarkan kelompok hari jumlah sel pada hari ke -3, -7, -14, dan -21 pada kelompok sehat dan kelompok DM signifikan p-value=<0,001.

Tabel 3. Hasil Uji Statistik Two-way ANOVA Sel Fibroblas

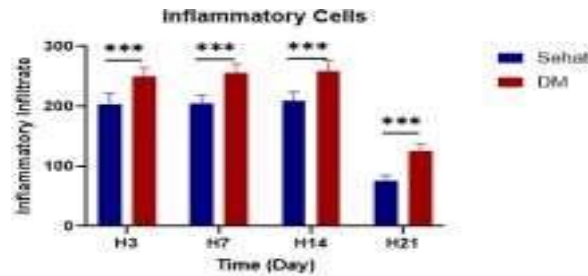
Two-way ANOVA				
Source of Variation	% of total variation	P value	P value summary	Significant
Interaction	0.5028	<,001	***	Yes
Times (Days)	7.424	<,001	***	Yes
Treatment	2.628	<,001	***	Yes

Berdasarkan tabel 3. dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan sel fibroblast terhadap proses penutupan pada kelompok sehat dan kelompok DM. Berdasarkan kelompok hari jumlah pada hari ke -3, -7, -14. dan -21 signifikan p-value=<0,001.

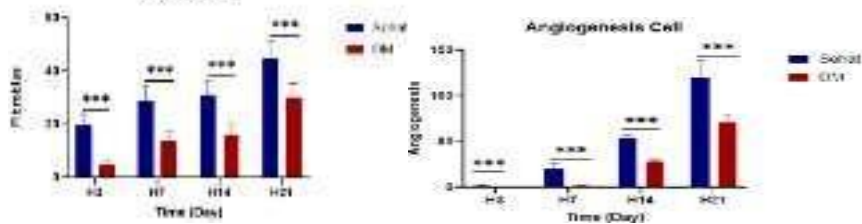
Tabel 4. Hasil Uji Statistik Two-way ANOVA Sel Angiogenesis

Two-way ANOVA				
Source of Variation	% of total variation	P value	P value summary	Significant
Interaction	4.283	<,001	***	Yes
Times (Days)	80.19	<,001	***	Yes
Treatment	8.420	<,001	***	Yes

Berdasarkan tabel 4. dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan Sel Angiogenesis terhadap proses penyembuhan luka pada kelompok sehat dan kelompok DM. Berdasarkan kelompok hari jumlah sel Angiogenesis pada hari ke -3, -7, -14, dan -21 kelompok sehat dan kelompok DM signifikan p-value= <0,001.



Gambar 4. Grafik Hasil Uji Statistik Sel Inflamasi



Gambar 5. Grafik Hasil Uji Statistik Sel Fibroblas

Gambar 6. Grafik Hasil Uji Statistik Sel Angiogenesis

Pada pengamatan hari ke -3 terjadi peningkatan sel PMN dan MN yang sangat signifikan pada kelompok sehat yang dapat dilihat pada tabel 2., dan gambar 4. hal tersebut berkaitan dengan proses penyembuhan luka dimana proses inflamasi berlangsung setelah adanya luka untuk menghentikan pendarahan, sel PMN dan MN keluar menyerang ke lokasi luka untuk menjaga luka tetap aseptik melalui fagositosis bakteri dan benda asing (Jayme et al., 2020). Fase ini berlangsung pada hari ke-3 hingga ke-7 pada kelompok sehat.

Pada pengamatan pada hari ke-7 menunjukkan jumlah sel inflamasi mengalami peningkatan pada kelompok DM dibandingkan kelompok sehat, hal tersebut dikaitkan dengan luka DM yang ditandai dengan peradangan yang berlebihan seperti pada gambar 4. Neutrofil yang berkontribusi terhadap peradangan dengan melepaskan enzim yang disebut sitotoksin dan radikal bebas yang menyebabkan stress oksidatif, stress oksidatif menyebabkan kerusakan jaringan yang lebih hingga menyebabkan tertundanya penyembuhan luka pada kondisi DM. Luka pada kondisi DM juga mengalami kekurangan pengiriman oksigen yang mengganggu migrasi leukosit dan meningkatkan resiko infeksi (Davis et al., 2018) (Previanda et al., 2021).

Pada pengamatan hari ke-14 terjadi peningkatan fibroblas pada kelompok sehat dibandingkan dengan kelompok DM. Hal ini terjadi karena kondisi fase proliferasi yang ditandai dengan munculnya fibroblas yang terlihat pada permukaan seperti pada tabel 3., dan gambar 5. Fibroblas secara bertahap memproduksi lebih banyak pada kelompok sehat untuk meningkatkan kekuatan penyembuhan pada luka, fibroblas juga berdeferensiasi menjadi miofibroblas yang secara aktif menarik tepi luka untuk memperkecil area luka (Zhu et al., 2019).

Pada pengamatan hari ke-21 merupakan proses penyembuhan luka yaitu

remodelling. Pada kelompok sehat terjadi peningkatan angiogenesis dibandingkan dengan kelompok DM yang dapat dilihat pada $t(4b^2e^{21-43}4^3)$, dan gambar 6. Hal ini terjadi karena pada kelompok sehat sel fibroblas berkontribusi pada angiogenesis membentuk kapiler baru yang memanjang dari jaringan disekitar luka (Zhu et al., 2019). Luka mengalami regenerasi dan pematangan jaringan dimana terbentuk dan banyaknya angiogenesis untuk menutup luka (Soheilifar et al., 2024). Sementara pada kelompok DM angiogenesis yang tidak mencukupi merupakan salah satu penyebab terbesar buruknya penyembuhan luka yang disebabkan juga makrofag yang memproduksinya (Okonkwo & DiPietro, 2017).

4. Diskusi

Pengamatan terhadap proses penyembuhan luka dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan secara makroskopis dilakukan pengukuran panjang dan lebar pada luka punggung mencit menggunakan alat ukur jangka sorong digital yang dapat dilihat pada gambar 1. Pada pengamatan hari ke-3 tanda kemerahan dijumpai pada fase inflamasi (hari ke 3-7) pada kelompok luka sehat warna luka berubah dari merah menjadi kekuningan dan kering, sedangkan pada kelompok DM luka tampak berwarna merah, hal tersebut terjadi ketika kondisi vasokonstriksi yang mengalami peningkatan aliran darah dan menyebabkan luka merah dan hangat (Purwanto, 2023).

Pada pengamatan hari ke-7, luka pada kelompok sehat nampak kering dan kemerahan pada tepi luka dan terdapat terdapat granula jaringan (keropeng) yang terjadi akibat pembentukan pembuluh darah baru yang ditandai dengan munculnya angiogenesis (Davis et al., 2018), sedangkan pada luka DM, luka tampak basah dan mengeluarkan eksudat. Pada pengamatan hari ke- 14, luka pada kelompok sehat mengalami perubahan ukuran luka yang lebih kecil dibandingkan dengan sebelumnya. Hal ini disebabkan oleh pergerakan centripetal dari tepian luka menuju ke arah luka (Rakhimah, 2023). sedangkan pada kelompok DM, eksudat masih terus berlangsung dengan perubahan warna menjadi hitam pada luka, yang berarti bahwa proses penyembuhan luka berjalan lambat, dan pada pengamatan hari ke-21, luka pada kelompok sehat telah menutup, sedangkan luka pada kelompok DM baru kering dan mengalami pembentukan keropeng atau jaringan granulasi. Hal ini menunjukkan bahwa proses penyembuhan luka pada kelompok sehat lebih cepat dibandingkan dengan kelompok DM.

Sedangkan pengamatan secara mikroskopis dilakukan pengamatan pada preparat histopatologi untuk menghitung jumlah sel PMN, MN, Fibroblas, dan Angiogenesis sebagai tanda-tanda proses penyembuhan luka. Penyembuhan luka merupakan proses kompleks yang dibagi meliputi tahap hemostatis, inflamasi, proliferasi, dan *remodelling*. Proses penyembuhan luka normal dimulai dengan penyempitan pembuluh darah yang rusak dan penghentian adanya pendarahan yang disebut aktivitas faktor vasokonstriksi (Mancuso & Santagostino, 2017).

Hasil pengamatan mikroskopis pada hari ke -3 menunjukkan terjadinya proses inflamasi. Proses inflamasi melibatkan peradangan yang menyebabkan kerusakan pada jaringan. Selain trombosit, PMN, dan MN seperti sel neutrofil, monosit, dan makrofag menyerang ke lokasi luka untuk menjaga luka tetap aseptik melalui fagositosis bakteri dan benda asing yang masuk kedalam luka mencapai puncak fase proliferasi (Jayme et al., 2020) (Mayer-Davis et al., 2018). Sel Neutrofil merupakan sel inflamasi yang pertama bermigrasi menyerang ke lokasi luka, fungsinya ialah memfagositosis dengan membuang benda asing dan bakteri yang terperangkap di dalam luka (Wang et al.,

2017).

Dalam waktu 48 jam setelah terjadi luka sel monosit bermigrasi ke luka dari pembuluh darah, monosit pada dasarnya menggantikan neutrofil di area luka. Monosit berdiferensiasi menjadi makrofag dan melanjutkan proses fagositosis pada inflamasi akhir (hari ke- ke-7) (Li et al., 2022). Makrofag bertanggung jawab untuk membersihkan sisa-sisa matriks dan melakukan perbaikan luka untuk merangsang migrasi dan proliferasi sel (Shintaku, 2024). Sel limfosit ditemukan bermigrasi ke lokasi luka pada fase inflamasi. Limfosit menghasilkan kemokin dan sitokin yang berperan dalam insiasi dan regulasi respon inflamasi selama penyembuhan luka (Sîrbulescu et al., 2017). fase ini berlangsung pada hari ke-3 hingga ke-7 pada kelompok sehat.

Hasil pengamatan pada hari ke- 3 menunjukkan jumlah sel inflamasi mengalami peningkatan pada kelompok DM dibandingkan kelompok sehat, hal tersebut dikaitkan dengan luka DM yang ditandai dengan peradangan yang berlebihan seperti pada gambar 3. Pada kondisi luka DM neutrofil berkontribusi terhadap peradangan dengan melepaskan enzim yang disebut sitotoksin dan radikal bebas yang menyebabkan stress oksidatif, stress oksidatif menyebabkan kerusakan jaringan yang lebih hingga menyebabkan tertundanya penyembuhan luka pada kondisi DM. Luka pada kondisi DM juga mengalami kekurangan pengiriman oksigen yang mengganggu migrasi leukosit dan meningkatkan resiko infeksi (Davis et al., 2018) (Previanda et al., 2021). Pada pengamatan hari ke-14 tampak terjadi fase proliferasi yang ditandai dengan munculnya fibroblas yang terlihat pada permukaan seperti pada gambar 4.

Fibroblas secara bertahap memproduksi lebih banyak untuk meningkatkan kekuatan penyembuhan pada luka, fibroblas juga berdeferensiasi menjadi miofibroblas yang secara aktif menarik tepi luka untuk memperkecil area luka (Zhu et al., 2019). Pada pengamatan hari ke-21 merupakan tahap akhir dari proses penyembuhan luka yaitu *remodelling*. Fibroblas berkontribusi pada angiogenesis membentuk kapiler baru yang memanjang dari jaringan disekitar luka, sel-sel fibroblas yang semakin bertambah mulai bersintesis dan mengeluarkan sejumlah besar kolagen luka (Zhu et al., 2019). Suplai nutrisi dan oksigen untuk jaringan granulasi diperoleh dari pembuluh darah baru (angiogenesis). Proses angiogenesis menghasilkan penumpukkan pembuluh darah baru sehingga pada setiap perlakuan tampak adanya kemerahan disekitar luka. Luka mengalami regenerasi dan pematangan jaringan gimana kolagen terbentuk dan banyaknya angiogenesis untuk menutup luka (Soheilifar et al., 2024).

Pada luka diabetes angiogenesis yang tidak mencukupi merupakan salah satu penyebab terbesar buruknya penyembuhan luka yang disebabkan juga makrofag yang memproduksinya (Okonkwo & DiPietro, 2017). Pada tahap akhir penyembuhan luka pembuluh darah penderita diabetes mengalami kekurangan pengiriman oksigen yang mengganggu migrasinya leukosit kedalam luka sehingga meningkatkan resiko infeksi sampai pada tahap akhir (Khamaisi & Balanson, 2017). Pada kondisi DM penyembuhan menghasilkan bekas luka yang ditandai sintesis angiogenesis yang lebih rendah dibandingkan dengan jaringan sehat yang disebabkan fibroblas pada luka DM sulit berkembang biak dan telah mencapai kondisi tua sehingga menyebabkan gangguan pada proses penyembuhan luka (Dasari et al., 2021).

5. Simpulan

Pada penelitian ini disimpulkan bahwa pengamatan secara makroskopis bahwa luka pada kelompok mencit DM hari ke 21 belum mengalami penutupan luka sedangkan luka pada kelompok mencit sehat sudah menutup. Pengamatan secara mikroskopis bahwa kondisi histopatologi pada luka sehat lebih cepat melewati fase penyembuhan luka dibanding luka DM.

6. Ucapan terima kasih

Terimakasih kepada seluruh dukungan dari teman dan dosen di Fakultas Kesehatan Ikes Rajawali yang senantiasa mendukung penelitian ini.

7. Referensi

1. Astuti, P., Agfiany, R. S., & Abidin, R. K. (2020). Aktivitas Ekstrak Gel Aloe Vera Sebagai Antiinflamasi Untuk Mempercepat Proses Penyembuhan Luka Pada Tikus Sprague Dawley. *Jurnal Ilmiah Umum Dan Kesehatan Aisyiyah*, 5(1).
2. Abdullah, F., Tahir, T., & Kadar, K. (2022). Etode Pencucian Luka Pada Luka Akut Dan Kronik: Literature Review. *Jurnal Keperawatan*, 14(S4).
3. Alphama, R., & Suhaymi, E. (2021). Perbandingan Efektivitas Povidone Iodine Dengan Kopi Robusta Terhadap Penyembuhan Luka Sayat Pada Mencit (Mus Musculus)
4. Anggreni, D. (2022). Buku Ajar Metodologi Penelitian Kesehatan (Eka, Ed.; 1st Ed.). Stikes Majapahit Mojokerto.
5. Ariyani, H., Hairuddin, K., & Palilingan, A. P. (2023). Metodologi Penelitian Kesehatan Dan Statistika. Barung, N. E., Wungow, R., & Kalonio, E. D. (2021). Percepatan Penutupan Luka Sayat Pada Tikus Putih Akibat Pemberian Perasan Rimpang Temulawak (Curcuma Xanthorrhiza Roxb.). *Jurnal Pharmascience*, 8.
6. Barung, N. E., Wungow, R., & Kalonio, E. D. (2021). Percepatan Penutupan Luka Sayat Pada Tikus Putih Akibat Pemberian Perasan Rimpang Temulawak (Curcuma Xanthorrhiza Roxb.). *Jurnal Pharmascience*, 8.
7. Cahyaningtyas, U., & Werdiningsih, R. (2022). Analisis Faktor Lama Penyembuhan Kaki Diabetes/Ulkus Diabetikum Pada Pasien Dm Tipe 2. *Jurnal Media Administrasi*, 7(1), 28–39.
8. Chmielewski, P. P., & Strzelec, B. (2018). Elevated Leukocyte Count As A Harbinger Of Systemic Inflammation, Disease Progression, And Poor Prognosis: A Review. *Folia Morphologica*, 77(2), 171–178. <https://doi.org/10.5603/Fm.A2017.0101>
9. Dasari, N., Jiang, A., Skochdopole, A., Chung, J., Reece, E. M., Vorstenbosch, J., & Winocour, S. (2021). Updates In Diabetic Wound Healing, Inflammation, And Scarring. *Seminars In Plastic Surgery*, 35(03), 153–158. <https://doi.org/10.1055/S-0041-1731460>
10. Davis, F. M., Kimball, A., Boniakowski, A., & Gallagher, K. (2018). Dysfunctional Wound Healing In Diabetic Foot Ulcers: New Crossroads. *Current Diabetes Reports*, 18(1), 2. <https://doi.org/10.1007/S11892-018-0970-Z>
11. Detty, U. A., Fitriyani, N., Prasetya, T., & Florentina, B. (2020). *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada. University Research Colloquium*, 11(1), 258–264.

12. Dewi, S. P. (2018a). Efektifitas Ekstrak Lidah Buaya Terhadap Jumlah Sel Fibroblast Pada Proses Penyembuhan Luka Incisi Marmut. *Intisari Sains Medis*, 9(3), 51–54.
13. Fadel, N. M., & Besan, J. E. (2020). Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata L.*) Pada Mencit Yang Diinduksi Alloxan. *Indonesian Jurnal Farmasi*, 5(2).
14. Firdaus, D. Y., Guyansyah, A., Thenu, U., & Denggo, S. D. (2022). Comparison Of Neutrophil Lymphocyte Ratio (Nlr), Mean Platelet Volume (Mpv) And Platelet Lymphocyte Ratio (Plr) In Preeclampsia And Normotensive Pregnancies. *Journal Of The Medical Sciences (Berkala Ilmu Kedokteran)*, 54(4). <https://doi.org/10.19106/jmedsci005404> 202204
15. Fitriani, A., Bashori, A., & Sudiana, K. I. (2018). Efek Angiogenesis Gel Ekstrak Daun Lamtoro (*Leucaena Leucocephala*) Pada Luka Insisi Tikus. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 20(1).
16. Fitriana, N. (2021). Efek Ekstrak *Channa Striata* Terhadap Nilai Neutrophil Lymphocyte Ratio (Nlr) Pada Tikus Hiperglikemia Yang Mengalami Perlukaan Aku.
17. Griana, P. T., Fazri, I. K. S. T. A., & Pardjianto, B. (2021). Aplikasi Topikal Ekstrak Daun Kesambi Meningkatkan Penyembuhan Luka Pada Mencit. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehata*, 8.
18. Herrmann, K. (2019). Beyond The 3rs: Expanding The Use Of Human-Relevant Replacement Methods In Biomedical Research. *Altex*, 343–352. <https://doi.org/10.14573/Altex.1907031>
19. Handayani, A., Anggraini, D. A., & Roaini, S. (2020). Hubungan Kadar Glukosa Darah Dengan Jumlah Eritrosit Dan Jumlah Leukosit Pada Penderita Diabetes Melitus Baru Dan Lama. *Prosiding Seminar Nasional Kesehatan*.
20. Handayani, R. D., Haeni, L., & Sukmara, R. M. (2021). (Pengaruh Ekstrak Ethanol Cabai Rawit (*Capsicum Frutescens*) Terhadap Penyembuhan Luka Dan Malondialdehyde Kulit Tikus). *Journal Of Health And Dental Sciences*, 1(3), 247–258.
21. Hardianto, D. (2020). Telaah Komprehensif Diabetes Melitus: Klasifikasi, Gejala, Diagnosis, Pencegahan, Dan Pengobatan. *Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 7(1).
22. Hasanah, S., Septiani, & Dewi, P. A. (2021). Analisis Jumlah Leukosit Pada Penderita Ulkus Diabetikum Diabetes Mellitus Tipe 2. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 2(3).
23. Hasim, H., Faridah, D. N., Safithri, M., Husnawati, H., Setiyono, A., & Manshur, H.A. (2020). Aktivitas Penurunan Kadar Glukosa Pada Tikus Yang Diinduksi Alloxan Dari Ekstrak Air Angkak, Bekatul, Dan Kombinasinya. *Warta Industri Hasil Pertanian*, 37(2) m172. <https://doi.org/10.32765/Wartaihp.V37i2.5460>
24. Herrmann, K. (2019). Beyond The 3rs: Expanding The Use Of Human-Relevant Replacement Methods In Biomedical Research. *Altex*, 343–352. <https://doi.org/10.14573/Altex.1907031>
25. Husna, F., Suyatna, D. F., Arozal, W., & Purwaningsih. (2019a). Model Hewan Coba Pada Penelitian Diabetes. *Pharmaceutical Sciences And Research (Psr)*, 6(2), 131–141.

26. Ighodaro, O. M., Adeosun, A. M., & Akinloye, O. A. (2017). Alloxan-Induced Diabetes, A Common Model For Evaluating The Glycemic-Control Potential Of Therapeutic Compounds And Plants Extracts In Experimental Studies. *Medicina*, 53(6), 365–374. <https://doi.org/10.1016/J.Medici.2018.02.001>
27. Irwandi, Sartika, D., & Putra, D. E. (2022). Efek Penyembuhan Luka Eksisi Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*) Dengan Ekstrak Etanol Biji Buah Durian (*Durio Zibethinus L.*) Selama 10 Har. 7, 90–101.
28. Jayme, T. S., Leung, G., Wang, A., Workentine, M. L., Rajeev, S., Shute, A., Callejas, B. E., Mancini, N., Beck, P. L., Panaccione, R., & Mckay, D. M. (2020). Human Interleukin-4–Treated Regulatory Macrophages Promote Epithelial Wound Healing And Reduce Colitis In A Mouse Model. *Science Advances*, 6(23). <https://doi.org/10.1126/Sciadv.Aba4376>
29. Kartadinata, L. S., Dwipayana, P. M. I., Saraswati, R. M., & Rena, A. R. M. N. (2023). Hubungan Kadar Hba1c Dan Lamanya Diabetes Dengan Rasio Neutrofil Limfosit Darah Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 Di Poliklinik Endokrin Dan Diabetes Rsup Prof. Dr.I.G.N.G. Ngoerah Denpasar. *Urnal Medika Udayana*, 12(3).
30. Khamaisi, M., & Balanson, S. (2017). Dysregulation Of Wound Healing Mechanisms In Diabetes And The Importance Of Negative Pressure Wound Therapy (Npwt). *Diabetes/Metabolism Research And Reviews*, 33(7). <https://doi.org/10.1002/Dmrr.2929>
31. Li, Y., Alnojeidi, H., Kilani, R. T., & Ghahary,(2022). M-Csf-Stimulated Myeloid Cells Can Convert Into Epithelial Cells To Participate In Re-Epithelialization And Hair Follicle Regeneration During Dermal Wound Healing. *Plos One*, 17(6), E0262060.<https://doi.org/10.1371/Journal.Pone.0262060>
32. Mancuso, M. E., & Santagostino, E. (2017). Platelets: Much More Than Bricks In A Breached Wall. *British Journal Of Haematology*, 178(2), 209–219. <https://doi.org/10.1111/Bjh.14653>
33. Mayer-Davis, E. J., Kahkoska, A. R., Jefferies, C., Dabelea, D., Balde, N., Gong, C. X., Aschner, P., & Craig, M. E. (2018). Ispad Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: Definition, Epidemiology, And Classification Of Diabetes In Children And Adolescents. *Pediatric Diabetes*, 19, 7–19. <https://doi.org/10.1111/Pedi.12773>
34. Marzel, R. (2021). Terapi Pada Dm Tipe 1. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, 3(1).
35. Mayangsari, A. M., Nuroini, F., & Ariyadi, T. (2019). Perbedaan Kualitas Preparat Ginjal Marmut Pada Proses Deparafinasi Menggunakan Xylol Dan Minyak Zaitun Pada Pewarnaan He. 2.
36. Murtiningsih, K. M., Pandelaki, K., & Sedli, P. B. (2021). Gaya Hidup Sebagai Faktor Risiko Diabetes Melitus Tipe 2. *E-Clinic*, 9(2),328–333.
37. Mutiarahmi, C. N., Hartady, T., & Lesmana, R. (2021). Use Of Mice As Experimental Animals In Laboratories That Refer To The Principles Of Animal Welfare: A Literature Review. *Indonesia Medicus Veterinus*, 10(1), 134–145.<https://doi.org/10.19087/Imv.2020.10.1.134>
38. Noena, N. A. R., Thahir, Z., Base, H. N., & Fahriani. (2020). Aktivitas Anti Hiperqlikemia Minyak Kluwak Pada Hewan Uji Mencit (*Mus Musculus*).

Jurnal Kesehatan Yamasi Makassar, 4(1), 40–46.

39. Nugroho, A. R. (2018a). *Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium* (Andi, Ed.; Agustus). Mulawarman University Press. Samarinda.
40. Nurani, L. H., Sikumbang, I. M., Yuliani, S., & Edityaningrum, C. A. (2022). The Effect Of Betel Leaf Extract Spray On Histopathology Of Wound Healing. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis* 185–193. <https://doi.org/10.31603/Pharmacy.V8i2.6.902>
41. Okonkwo, U., & Dipietro, L. (2017). Diabetes And Wound Angiogenesis. *International Journal Of Molecular Sciences*, 18(7), 1419. <https://doi.org/10.3390/Ijms18071419>
42. Palupi, A. D., Agustina, L. N., & Sugiarti, L. (2022). Pengaruh Sediaan Topikal Salep Kstrak Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* Linn) Terhadap Luka Insisi Mencit Diabetes Melitus. *Cendekia Journal Of Pharmacy*, 6(1).
43. Pratiwi, S., Natalia, R., Wirakesuma, T. M., & Apriani, S. (2021). Hubungan Pola Konsumsi Makanan Dengan Kejadian Diabetes Mellitus Tipe Ii Pada Lansia Di Kelurahan Sei Langkai Kota Batam Tahun 2021. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Dan Kesehatan*, 1(1).
44. Primadina, N., Basori, A., & Perdanakusuma, S. D. (2019). Proses Penyembuhan Luka Ditinjau Dari Aspek Mekanisme Seluler Dan Molekuler. *Qanun Medika*, 3(1).
45. Priyanto, Y., Chritijanti, W., Lisdiana, & Marianti, A. (2023). Aktivitas Antioksidan Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) Pada Tikus Diabetik Induksi Alloxan N. *Life Science*, 12(1).
46. Purnomo, D. (2020). Faktor – Faktor Yang Mempengaruhi Hasil Belajar Siswa Pada Mata Pelajaran Menggambar Teknik Di Smk. *Jurnal Kajian Pendidikan Teknik Bangunan*, 3.
47. Purwanto, E. (2023b). Perbandingan Penggunaan Povidone Iodine 10% Dengan Normal Saline Untuk Proses Penyembuhan Luka. 7.
48. Putri, V. K., Novitasari, I., Wardatina, H., Tangkeallo, L., Ashari, D. M., & Isnaini. (2022). Ktivities Penyembuh Luka Gel Ekstrak Metanol Bunga Galam (*Melaleuca Cajuputi* Subsp. *Cumingiana* (Turcz.) Barlow) Pada Tikus Wistar. *Journal Of Agromedicine And Medical Sciences (Ams)*, 8(1), 34–38.
49. Purwanto, E. (2023). Perbandingan Penggunaan Povidone Iodine 10% Dengan Normal Saline Untuk Proses Penyembuhan Luka. *Jurnal Ilmiah Keperawatan Dan Kebidanan* , 07(01), 12–18.
50. Raharjo, B. S., Suratmin, R., Maulidia, D., Pratiwi, O., & Fidela, M. R. (2022). Perawatan Luka Ulkus Diabetikum: Tinjauan Literatur. *Jurnal Keperawatan*, 1(2), 98–104.
51. Rakhimah, F. (2023). Perbedaan Percepatan Penyembuhan Perawatan Luka Bersih Dengan Menggunakan Sodium Klorida 0,9% Dan Povidone Iodine 10% Pada Pasien Sectio Caesaria. *Jurnal Inovasi Penelitian* , 03(10).
52. Safaruddin, Arum, M., Wahyuningsih, S., & Amin, R. (2022). Effectiveness Test Of Transdermal Patch Of Ethanolextract Of Javanese Bark (*Lannea Coromandelica* (Houtt.) Merr) Against Cuts In Male White Rats (*Rattus Norvegicus*). *Jurnal Multidisiplinmadani (Mudima)*, 2(2), 1001–1018.
53. Samirana, P. O., Sudimartini, L. M., Sumadi, I. W. J., & Wilantari, P. D.

- (2022). Efek Pemberian Sediaan Salep Ekstrak Daun Binahong Secara Dermal Pada Luka Insisi. *Buletin Veteriner Udayana*, 185. <https://doi.org/10.24843/Bulvet.2022.V14.I02.P16>
54. Shintaku, M. (2024). H3 K27-Altered Diffuse Midline Glioma Of The Thalamus With Formation Of Glio-Fibrillary Globular Structures. *International Journal Of Clinical And Experimental Pathology*, 17(7), 227–233. <https://doi.org/10.62347/Srzzr7392>
55. Sîrbulescu, R. F., Boehm, C. K., Soon, E., Wilks, M. Q., Ilieş, I., Yuan, H., Maxner, B., Chronos, N., Kaittanis, C., Normandin, M. D., El Fakhri, G., Orgill, D. P., Sluder, A. E., & Poznansky, M. C. (2017). Mature B Cells Accelerate Wound Healing After Acute And Chronic Diabetic Skin Lesions. *Wound Repair And Regeneration*, 25(5), 774–791. <https://doi.org/10.1111/Wrr.12584>
56. Soheilifar, M. H., Dastan, D., Masoudi-Khoram, N., Keshmiri Neghab, H., Nobari, S., Tabaie, S. M., & Amini, R. (2024). In Vitro And In Vivo Evaluation Of The Diabetic Wound Healing Properties Of Saffron (*Crocus Sativus* L.) Petals. *Scientific Reports*, 14(1), 19373. <https://doi.org/10.1038/S41598-024-70010-8>
57. Wulandari, C. A. P. (2020). Identifikasi Alginat Dari *Sargassum Duplicatum* Jg Agardh Dan *Sargassum Ilcifolium* Turner Serta Uji Aktivitas Kombinasi Alginat-Ekstrak Kulit Buah Manggis Pada Proses Penyembuhan Luka Terbuka Mencit Diabetik. *Perpustakaan Universitas Airlangga*.