

PENGARUH HYDROGEL HUMAN AMNION MEMBRANE PADA WOUND HEALING DIABETIC IN VIVO DENGAN MENGUKUR LUAS AREA KOLAGEN MENGGUNAKAN SOFTWARE *ImageJ*

Suyarta Efrida Pakpahan^{1*} · Muhammad Alwi Sutomi² · Fitri Rahmi Fadhilah³

^{1,2,3} Diploma Empat Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Kesehatan, Institut Kesehatan Rajawali, Jawa Barat, Indonesia
e-Mail : Suyartapakpahan@gmail.com
No Tlp WA : 082221222919

Abstract

One of the complications that occur in DM sufferers is the occurrence of chronic complications. Hydrogel as a wound dressing has excellent biocompatibility. Human amnion membrane contains ECM with components such as growth factors, collagen, and proteoglycans as wound healing and tissue regeneration. To analyze the effect of hAM hydrogel treatment on the wound closure process in mice macroscopically and the area of collagen microscopically on days 3, 7, 14 and 21. The design of this research is experimental. Four treatment groups were used, namely DM NT, Sehat NT, DM carbopol and DM hAM. Wound measurements were carried out on days 3, 7, 14, 21 (macroscopic), tissue processing, Masson's trichrome staining, collagen area measurements (microscopic), and two-way anova test analysis was carried out using Graphpad Prism 10.2.3. The DM hAMD group experienced rapid wound closure and had the highest collagen area compared to the DM NT, Sehat NT, DM carbopol groups with a significant value of <0.05. Our findings suggest a promising potential of human amnion membrane hydrogel in influencing the healing process of diabetes mellitus wounds in vivo, as measured by the collagen area using ImageJ software.

Keywords : Collagen, Diabetes Mellitus, Human Amnion Membrane, Hydrogel, ImageJ

Abstrak

Salah satu komplikasi yang terjadi pada penderita DM adalah terjadinya luka kronis. Hydrogel sebagai wound dressing bersifat biokompatibilitas yang baik. Human amnion membrane mengandung ECM dengan komponen seperti faktor pertumbuhan, kolagen, dan proteoglikan sebagai anti-inflamasi serta anti-mikroba pada luka. Untuk menganalisis pengaruh treatment hydrogel hAM pada proses penutupan luka mencit secara makroskopis dan luas area kolagen secara mikroskopis pada hari ke- 3, 7, 14 dan 21. Desain pada penelitian ini adalah eksperimental. Digunakan 4 kelompok perlakuan yaitu Sehat non-treatment, DM non-treatment, DM carbopol dan DM hAM. Dilakukan pengukuran penutupan luka (makroskopis), prosesing histologi (treechrome masson), pengukuran luas area kolagen (mikroskopis) pada hari ke-3, 7, 14, 21. Dilakukan analisis uji Two-way ANOVA menggunakan Graphpad Prism 10.2.3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kolagen meningkat pada fase proliferasi hingga fase remodelling. Kelompok DM hAMD mengalami penutupan luka lebih cepat dan memiliki area kolagen paling luas dibanding dengan kelompok Sehat NT, DM NT, DM carbopol dengan nilai signifikan <0.05. Kelompok DM hAMD memiliki area kolagen paling luas sehingga penutupan luka lebih cepat dibanding kelompok Sehat NT, DM NT, DM carbopol. Pemberian treatment hydrogel hAMD pada luka diabetes mellitus memiliki pengaruh signifikan terhadap proses penyembuhan luka.

Kata Kunci : Diabetes melitus, Hydrogel, Human Amnion Membrane, ImageJ, Kolagen

PENDAHULUAN

Luka kronis adalah luka yang disebabkan oleh penyakit seperti diabetes, tumor, dan lain-lain. Luka kronis membutuhkan waktu yang lama untuk sembuh, dikarenakan terjadinya kegagalan untuk beregenerasi secara alami dan sering

sembuh dengan pembentukan jaringan fibrotik dengan struktur dan sifat mekanik yang terganggu (Rashmi, 2020). Salah satu contoh luka kronis adalah luka diabetik yang disebabkan oleh penyakit diabetes mellitus (Fuadi, 2022). Tingginya kadar gula darah menjadi penyebab terjadinya luka pada pasien diabetes mellitus karena tingginya gula darah menjadi tempat yang strategis untuk pertumbuhan kuman, oleh karena itu kuman dan bakteri mudah berkembang dan menyebabkan luka infeksi (Damsir et al., 2018).

Penyakit diabetes mellitus (DM) merupakan suatu penyakit kronis dimana pankreas tidak cukup memproduksi insulin atau saat tubuh tidak efektif menyerap insulin yang diproduksi (WHO, 2022). Selama beberapa dekade terakhir, jumlah kasus diabetes terus meningkat. Data terbaru *International Diabetic Federation* pada tahun 2021 menyebutkan bahwa sekitar 7,1 persen orang di Indonesia mengalami hiperglikemia. Jumlahnya meningkat 81,8% dari tahun 2019. Secara tidak langsung, jumlah pengidap diabetes di Indonesia menempati peringkat kelima di dunia setelah China, India, Pakistan, dan Amerika Serikat. Di antara sepuluh negara dengan jumlah kasus diabetes tertinggi, Indonesia adalah satu-satunya negara Asia Tenggara (Sun et al., 2021).

Komplikasi kronis berupa luka pada permukaan kulit yang dapat menyebabkan nekrosis atau kematian jaringan adalah salah satu komplikasi yang mungkin terjadi pada penderita DM (Fuadi, 2022). Pengobatan yang dilakukan untuk mempercepat proses penyembuhan luka diabetes diantaranya adalah dengan cara mengganti jaringan yang rusak dengan pengganti yang sifatnya biokompatibel seperti *autografts*, *allografts*, dan *xenografts*. Namun, ketiga opsi tersebut mempunyai kelemahan diantaranya adalah menimbulkan luka baru, proses penyembuhan luka lebih lama, menimbulkan luka baru, komplikasi infeksi serta membutuhkan biaya yang tinggi (Rashmi, 2020). Pengobatan dalam bentuk serbuk memiliki keterbatasan yaitu implementasi pada luka dilakukan dengan cara ditabur sehingga produk ini kemungkinan tidak dapat masuk ke lapisan luka yang paling dalam (Sepantafar et al., 2020). Pengobatan dalam bentuk sediaan salep, namun memiliki tekstur lengket dan sedikit berminyak (Martihandini et al., 2023). Serta terdapat pembalut luka dengan jenis *thin film*, memiliki kekurangan yaitu tidak memiliki kapasitas penyerapan dan dapat menempel pada luka (Firlar et al., 2022). Seiring meningkatnya kemajuan teknologi dan ilmu pengetahuan maka telah banyak

dikembangkan berbagai alternatif yang digunakan untuk mengobati luka, salah satunya *wound dressing* menggunakan *hydrogel* (Haryanto, Karnofa, 2019). Maka dibutuhkan bentuk aplikasi yang memiliki kemampuan permeabilitas non toksik dan hidrofilik seperti *hydrogel* (Permatasari 2016).

Hydrogel merupakan polimer hidrofilik yang mana air atau cairan biologis mampu diserap tetapi tidak larut karena adanya *x-linked* (Puspita & Kurniati, 2022). *Hydrogel* adalah polimer yang ideal untuk pembalut luka karena mampu memberikan sensasi dingin yang dapat mengurangi pembengkakan pada daerah luka (Nabillah et al., 2022). *Hydrogel* digunakan dalam berbagai bidang, salah satunya bidang medis sebagai pembalut luka kronis, luka nekrotik, dan luka bakar karena memiliki sifat unik yaitu elastis dan lembut sehingga dapat mempermudah pengaplikasian dan pembersihan ketika luka sembuh. Selain itu, *Hydrogel* dapat memberikan lingkungan lembab pada luka, sehingga memfasilitasi debridemen jaringan nekrotik, meningkatkan regenerasi jaringan, mampu menunjukkan hidrasi yang kuat, bersifat biomimetik, dan menunjukkan sifat anti bakteri yang sangat baik dan biokompatibilitas yang sangat baik (Ou, Zhang and Fu, 2021). Maka dari itu untuk mempercepat proses penyembuhan luka diperlukan suatu bahan yang mengandung extracellular matrix (ECM) yang berasal dari *human amnion membrane*.

Human amnion membrane (hAM) merupakan bagian dari selaput plasenta janin, dimana hAM ini merupakan limbah medis. HAM memiliki komponen terkait struktural dan regeneratif yang baik, seperti faktor pertumbuhan, kolagen, dan glikoprotein yang dapat digunakan sebagai anti-inflamasi, anti-mikroba, penyembuhan luka serta modulasi atau regenerasi jaringan. Sebagai bahan biokompatibel yang tersedia, sehingga ketersediaannya mudah serta hemat biaya (Leal-marín et al., 2020). Membran amnion juga mengandung zat aktif biologis, yaitu zat angiogenik, berperan dalam pembentukan jaringan granulasi dalam penyembuhan luka. hAM telah digunakan sebagai bahan scaffold untuk berbagai aplikasi rekayasa jaringan, terutama sebagai pembalut kulit, karena struktur matriks ekstraselulernya dan sifat biologis penyembuh luka yang sangat baik (Fenelon et al., 2021).

Kolagen adalah protein yang mempunyai peran dasar untuk membentuk matriks pada fase proliferasi dan *remodeling* (Stamov, 2012; Frieda, 2022). Kolagen

utama yang berperan dalam histologi dan fisiologi yaitu kolagen tipe I dan kolagen tipe III (Wong, 2016; Cole, 2018; Reily, 2021). Kolagen yang umum ditemukan pada kulit adalah kolagen tipe I dan III. Kolagen berperan penting untuk penyembuhan luka (Finnerty et al., 2016). Pembentukan kolagen adalah proses penyembuhan luka, dimana kolagen ini diperlukan untuk meregenerasi jaringan, mengembalikan struktur dan fungsi anatomi tubuh (Hakim et al., 2020). Kolagen mampu melepaskan kekuatan dan integritas pada semua luka yang dapat menyembuhkan dengan cepat (Sumbayak, 2015). Kolagen memiliki peran krusial dalam proses inflamasi, proliferasi dan remodelling pada luka (Krivoshiev et al., 2017). Kualitas dan kuantitas kolagen yang diproduksi pada tahap inflamasi dapat mempengaruhi kecepatan penyembuhan luka, peningkatan produksi kolagen di area luka dapat membantu proses penyembuhan luka. Salah satu cara pengukuran kualitatif kolagen dengan cara pewarnaan *Trichrome Masson* dan kuantitatif dengan cara mengukur kolagen menggunakan aplikasi *ImageJ*.

ImageJ merupakan sebuah *software* berbasis java yang berfungsi untuk *quantitative image analysis* yang dapat membantu teknik pengukuran di bidang penelitian. Aplikasi ini digunakan untuk menganalisis gambar. *ImageJ* mendukung format gambar 8-bit, 16-bit, dan 32-bit seperti Jpeg, Tiff, Gif, Bmp, Fits, Dicom, dan juga format "raw" (Sufiyanto et al., 2022).

BAHAN DAN METODE

Alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya alat cukur (gillette), alas mencit, autoklik (general care), based mold (indopath), bunsen, batang pengaduk (pyrex), cassette jaringan, cool box, cover glass, cutter (joyko), freezer, gelas kimia (iwaki), gelas ukur (pyrex), glucometer (unesco), hot plate (leica), jangka sorong (deli), kamera, kandang mencit (mutiara), laptop (lenovo), mikroskop (olympus CX33), mikrotom (leica), neraca analitik (excellent), object glass (sail brand), oven, pensil (fabercastel), pinset, pisau bedah (b-braun), tempat makan dan minum mencit, water bath (leica). Bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya alkohol swab (sensi), Alkohol 70% 80% 96%, Alloxan (sigma aldrich), aquadest, entelan, etanol, handscoon (one med), hydrogel hAM, kapas, klorofom, lancet (general care), lithium, mencit, NBF 10%, pakan mencit, parafin, pasir zeloit, stik glukosa (unesco), tissue (paseo), pewarna *trichrome masson*, xylol.

1. Persiapan Hewan Uji

Persiapan hewan uji dilakukan dengan menggunakan mencit sehat dan memiliki berat 20-35 gram dengan usia 2-3 bulan. Hewan uji diadaptasi selama 7 hari untuk penyesuaian terhadap lingkungan baru (Budiman et al., 2021).

2. Pembuatan Larutan *Alloxan*

Larutan *alloxan* dapat dibuat dengan dengan dosis 120 mg/kg BB mencit dengan menimbang *alloxan* sebanyak 0,1 gram. Kemudian masukan serbuk *aloksan* yang sudah ditimbang ke dalam mortir dan tambahkan 10 ml NaCl 0,9% dan homogenkan sampai larut (Lina, Wijaya and Fuadah, 2022).

3. Induksi *Alloxan*

Penginduksian *alloxan* dapat dilakukan dengan cara mencit ditimbang dan dikelompokkan. Kemudian mencit dipuasakan selama 16 jam namun tetap diberikan air minum. Setelah itu, pemeriksaan gula darah dilakukan dengan cara menusuk ujung ekor mencit menggunakan jarum lanset steril, kemudian darah dihapus menggunakan tissue kering, kemudian darah diteteskan pada strip glukometer dan dimasukkan dalam glukometer yang telah divalidasi/kalibrasi untuk dibaca kadar glukosanya. Larutan *aloksan* monohidrat di injeksikan secara intraperitoneal dengan dosis 0,5 cc menggunakan spuit 1 ml. Mencit diberikan pakan standar dan minum seperti biasa setelah penyuntikkan. Kemudian stabilisasi selama 7 hari setelah induksi dengan larutan *aloksan*. Setelah itu, diukur kadar glukosa darah setelah perlakuan. Mencit yang mengalami hiperglikemia maka dapat dilakukan percobaan selanjutnya (Dewantara, Gunawan and Wirajana, 2017).

4. Pembuatan Luka Hewan Uji

Pembuatan luka dapat dilakukan dengan cara mencit di anestesi dengan menggunakan kloroform. Kemudian tunggu 5-10 menit hingga obat bius bereaksi. Setelah itu mencukur menggunakan gunting dan pencukur untuk memudahkan pada saat pembuatan luka, perlakuan dan pengamatan. Di bawah tubuh mencit yang akan dilukai, letakkan perlak dan alas. Lakukan desinfeksi pada area kulit yang telah dicukur menggunakan kapas alkohol 70%. Lakukan penyayatan kulit menggunakan pisau bedah steril dengan panjang 1x1 cm hingga ditandai dengan keluarnya darah, yang berarti sayatan sudah mencapai lapisan dermis (Bawotong, De Queljoe and Mpila, 2020).

5. Pengolesan Hydrogel

Mencit kelompok DM hAMD diberikan treatment hydrogel hAMD 15% dengan cara di oleskan pada area luka tiga kali dalam sehari.

6. Pengambilan dan Prosesing Jaringan

Sebelum dilakukan pengambilan jaringan, mencit di anestesi dengan menggunakan kloroform secara inhalasi dan cukur kembali bulu yang mulai tumbuh kemudian ambil bagian kulit dengan ketebalan \pm 3 mm sampai dengan subcutan. Dilanjutkan dengan prosesing jaringan dengan tahapan fiksasi (NBF 10% selama 24 jam), dehidrasi (alkohol 70, 80, 90, 95%, dan alkohol absolut), clearing (xylol), infiltrasi (parafin), dan embedding. Setelah jaringan dibuat blok dilanjutkan dengan pemotongan jaringan menggunakan mikrotom dan pewarnaan Trichrome Masson.

7. Pewarnaan Trichrome Masson

Pewarnaan trichrome masson diawali dengan proses deparafinisasi pada larutan xylol I dan II masing-masing 15 menit, lalu rehidrasi menggunakan alkohol dengan konsentrasi Absolute, 96%, 80%, 70%. Masing-masing 3 menit. Bilas akuades 3 menit. Digenangi Hematoxilin Weigert 15 menit. Bilas dengan air mengalir. Rendam menggunakan air hangat 10 menit. Digenangi asam fuchsin 5 menit. Bilas menggunakan akuades. Digenangi asam phospatungstik 15 menit, buang sisa zat pada slide. Ditetesi methyl blue, biarkan 5 menit. Bilas akuades. Dehidrasi dengan merendam slide 3 menit dalam alkohol dengan konsentrasi meningkat 70%, 80%, 96% dan absolut masing-masing 3 menit. Lakukan mounting.

Setelah dilakukan pewarnaan, berikutnya preparat di amati pada mikroskop dengan perbesaran 400x menggunakan kamera dan mikroskop cahaya (Olympus CX33) dan dilakukan pengukuran area kolagen menggunakan software *ImageJ*.

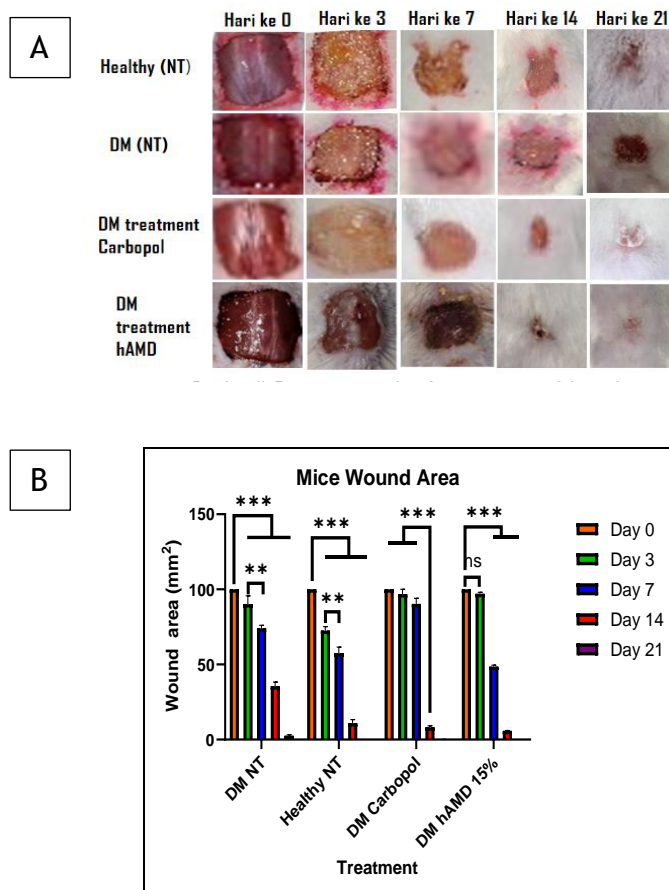
HASIL

Pengamatan yang dilakukan secara kualitatif dengan cara mewarnani preparat menggunakan pewarnaan tricrhome masson, kuantitatif pengukuran luas area kolagen yang berwarna biru. Analisis data terhadap penutupan luka dan luas area kolagen dilakukan uji statistik menggunakan Graphpad Prism 10.2.3.

1. Pengamatan Makroskopis

Pada pengamatan secara makroskopis yaitu observasi yang dilakukan untuk

melihat perbedaan secara visual terhadap karakteristik luka DM dan sehat tanpa pemberian treatment dengan luka DM yang diberikan treatment hydrogel Carbopol dan hydrogel human amnion membrane. Hasil pengamatan makroskopis dapat dilihat pada gambar 1.

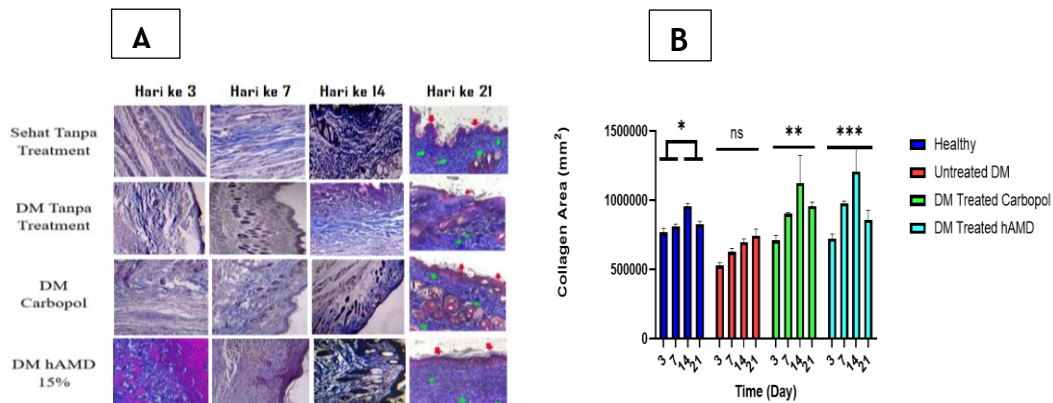


Gambar 1. a. Pengamatan makroskopis penutupan luka pada mencit sehat non treatment, DM non treatment, DM treatment carbopol dan DM treatment spidroin hari ke 0,3,7,14,21. b. Grafik hasil uji statistik ukuran luka

Pengamatan luka dilakukan sebanyak satu kali sehari selama 21 hari sesuai dengan lama proses penyembuhan luka normal untuk fase remodelling. Pengamatan berdasarkan penutupan dan adanya perubahan warna pada luka. Ukuran luka pada kelompok sehat NT, DM treatment Carbopol dan DM treatment hAMD 15% pada hari ke-21 sudah menutup rapat dan sembuh, sedangkan kelompok DM NT di hari ke-21 luka masih belum menutup rapat.

2. Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan secara mikroskopis ini untuk melihat proses penyembuhan luka berdasarkan histopatologi dengan mengukur luas area kolagen. Hasil pengamatan secara mikroskopis dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. a. Hasil pengamatan gambaran Histopatologi Kolagen perbesaran 400x
b. Grafik hasil uji ststistik luas area kolagen

Keterangan : (Kolagen), (Epitel).

Histopatologi pada proses penyembuhan luka yang diwarnai dengan Tricrhome Masson. Pengamatan mikroskopis dilakukan terhadap serat kolagen yang kemudian di ukur luas areanya menggunakan software *ImageJ*. Luas area kolagen mengalami peningkatan pada setiap fase, namun peningkatan secara signifikan pada fase proliferasi dan remodelling. Kelompok DM hAMD 15% memiliki area kolagen paling luas, sedangkan kelompok DM NT memiliki luas area kolagen paling kecil.

DISKUSI

Pengujian luka dilakukan pada kelompok DM dan sehat tanpa pemberian treatment sebagai kontrol negatif, luka DM diberikan treatment hydrogel carbopol sebagai kontrol positif (internal), dan luka DM diberikan *treatment hydrogel Human Amnion Membrane* (hAMD 15%) sebagai kelompok perlakuan. Luka pada mencit kemudian diberikan treatment secara makroskopis dengan mengoleskan hydrogel sehari 3 kali sesuai dengan kelompok hari pada masing-masing kelompok perlakuan. Pemberian treatment dilakukan pada pagi pukul 06.00 WIB, siang pukul 14.00 WIB dan malam pada pukul 22.00 WIB paska perlukaan. Observasi secara makroskopis juga dilakukan pengamatan pada perubahan warna luka dan pengukuran penutupan luka pada mencit dengan menggunakan jangka sorong digital yang diukur pada hari ke-3, 7, 14, dan 21.

Pengambilan jaringan kulit pada kelompok mencit hari ke-3, 7, 14, dan 21. Mencit di euthanasia menggunakan klorofom secara inhalasi, kemudian dilakukan pengambilan jaringan kulit dengan ukuran 20 mm x 20 mm menggunakan pisau bedah steril pada punggung mencit. Jaringan kulit yang diambil meliputi jaringan sehat dan jaringan yang sebelumnya terluka. Tahap selanjutnya dilakukan pembuatan preparat histopatologi dengan pewarnaan *Trichrome Masson*, tujuan pewarnaan ini yaitu untuk mewarnai jaringan ikat yang nantinya dapat dilihat profil kolagen dari jaringan luka mencit yang mengalami diabetes mellitus. Preparat jaringan yang telah diwarnai kemudian diamati menggunakan mikroskop untuk melihat profil kolagen jaringan tersebut yang kemudian diukur luas area kolagen menggunakan software *ImageJ*.

Berdasarkan gambar 1 pada hasil pengamatan makroskopis hari ke-3 terdapat perubahan ukuran luka dimana kelompok Sehat lebih kecil dibandingkan dengan DM carbopol dan DM HAMD 15%. Menurut Ngadiarti et al. (2021), hal itu terjadi karena dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti nutrisi, hormon, dan lingkungan. Pada hari ke-3 termasuk kedalam fase inflamasi dimana fase inflamasi berfungsi untuk membuang sel-sel yang rusak, dan melakukan pencegahan infeksi bakteri. Dalam proses penyembuhan luka, menurut pernyataan Primadina et al. (2019), pada fase inflamasi makrofag muncul di area luka dan melakukan beberapa peran diantaranya untuk fagositosis, pembebasan sitokin dan pengaturan proliferasi. Maka dari itu, makrofag berperan sangat penting dalam menjaga keseimbangan antara peradangan dan penyembuhan dalam proses penyembuhan luka.

Pengamatan makroskopis hari ke-7, Pada kelompok DM NT luka tampak basah. Pada kelompok Sehat NT luka tampak berwarna merah muda dan mulai mengering, pada kelompok DM carbopol dan kelompok DM hAMD 15% ukuran luka sudah mulai mengecil dan tampak terbentuk jaringan granulasi. Hal ini sejalan dengan pernyataan Antariksa et al. (2022), pada hari ke 7 yaitu tahap proliferasi, pada fase ini peningkatan jumlah fibroblas, dan angiogenesis berperan dalam pembentukan jaringan granulasi.

Pengamatan makroskopis hari ke-14 pada kelompok DM NT luka masih terlihat berwarna merah dan basah yang berarti bahwa proses penyembuhan luka berjalan lambat. Pada kelompok Sehat NT baru mengalami perubahan luka yang lebih kecil, sedangkan pada kelompok DM carbopol dan DM hAMD 15% luka sudah

hampir tertutup. Hal tersebut sejalan dengan pernyataan Rosanti et al. (2023), karena hydrogel mempunyai kadar air yang tinggi, penyebaran gel pada kulit lebih cepat, mudah berpenetrasi pada kulit sehingga dapat memberikan efek penyembuhan yang baik. Pengamatan makroskopis hari ke-21 terlihat bahwa luka pada kelompok Sehat NT, DM carbopol dan DM hAMD 15% sudah rapat. Sedangkan pada kelompok DM NT luka belum tertutup.

Berdasarkan uji statistik pada gambar 2 terlihat bahwa kelompok DM dengan pemberian treatment hydrogel Human Amnion Membrane memberikan pengaruh lebih besar terhadap proses penyembuhan luka serta tidak terjadinya infeksi. Hal ini sejalan dengan pernyataan Yuslianti et al. (2021), karena hAM mengandung *extracellular matrix* (ECM) yang dapat membantu mempercepat proses penyembuhan luka. Selain itu ECM juga memicu sel-sel leukosit berperan untuk mencegah terjadinya infeksi. Sedangkan pada kelompok DM tanpa treatment mengalami penyembuhan luka berjalan lambat.

Berdasarkan uji statistik pada gambar 4 bahwa luas area kolagen pada kelompok DM NT lebih kecil dibanding dengan kelompok Sehat NT, DM carbopol dan DM hAMD 15%. Hal ini sejalan dengan pernyataan Ji et al. (2022) bahwa luka diabetes mengalami fase inflamasi berlangsung lama. Hasil penelitian ini sejalan dengan Andre et al., (2019), bahwa pemberian bahan ECM dapat mempercepat produksi kolagen. Menurut Purnama et al. (2018), hal ini karena terjadi proliferasi sel fibroblas, apabila tidak terdapat kontaminasi atau infeksi yang bermakna, proses inflamasi akan berlangsung pendek. Menurut pernyataan Nasiry et al. (2020), yaitu dengan pemberian hAM yang telah di deselularisasi mengandung sejumlah faktor angiogenik yang sangat berperan dalam proses penyembuhan luka, diantaranya TGF- β dan bFGF yang mempengaruhi berbagai jenis sel seperti fibroblas dan keratinosit sehingga merangsang migrasi dan proliferasi sel, meningkatkan sintesis ECM sementara, pembentukan pembuluh darah baru, modulasi deposisi kolagen, dan remodelling ECM sementara menjadi ECM permanen di jaringan granulasi. Penelitian ini juga sejalan dengan pernyataan Dinda et al. (2020), bahwa TGF- β berperan penting dalam pertumbuhan sel fibroblas dan sintesis matrik ekstraseluler. TGF- β memicu aktifitas sel fibroblas sehingga meningkatkan proliferasi sel fibroblas. Sel fibroblas semakin banyak maka akan terjadi peningkatan jumlah kolagen yang berperan pada proses

remodelling. Maksimal proses sintesa kolagen berlangsung antara hari-14 dan hari-21. Pengamatan makroskopis sejalan dengan pengamatan mikroskopis dimana ukuran luka semakin besar maka area kolagen semakin kecil. Sebaliknya, ukuran luka semakin kecil maka area kolagen semakin besar.

KESIMPULAN

Kelompok DM hAMD mengalami penutupan luka dengan cepat dan memiliki area kolagen paling luas dibanding dengan kelompok Sehat NT, DM NT, dan DM carbopol. Pemberian *treatment hydrogel human amnion membrane* pada luka diabetes mellitus secara in vivo memiliki pengaruh yang signifikan terhadap proses penyembuhan luka dengan nilai sig <0.05.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada ITB Olympus Bioimaging Center (IOBC) dan tim peneliti.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan

REFRENSI

- Andre, Stefanus. 2019. Histopatologi Kulit Pada Kesembuhan Luka Insisi Tikus Putih Pasca Pemberian *Ekstra Selular Matrix* (ECM) yang Berasal dari Vesica Urinaria Babi. *Indonesia Medicus Veterinus*, 8(3):313-324.
- Bawotong, R.A., De Queljoe, E. and Mpila, D.A., 2020. Uji Efektivitas Salep Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Terhadap Penyembuhan Luka Sayat Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*). *Pharmacon*, 9(2), pp.284-293.
- Budiman, F.A. and Hidayat, F., 2021. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Umbi Bit (*Beta Vulgaris* L.) Dengan Metode Bslt (Brine Shrimp Lethality Test). *Jurnal Health Sains*, 2(3), pp.310-315.
- Damsir, D., Mattalatta, M., Muzakkir, M. and Irnayanti, R., 2018. Analisis Manajemen Perawatan Luka Pada Kasus Luka Diabetik Di Instalasi Gawat Darurat (IGD) Rumah Sakit Arifin Nu'mang Kabupaten Sidrap. *Window of Health: Jurnal Kesehatan*, pp.116-124.
- Dewantara, I.K.G.D., Gunawan, I.W.G. and Wirajana, I.N., 2017. Uji Potensi Ekstrak

- Etanol Daun Gedi (*Abelmoschus Manihot* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan Dan Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Galur Wistar Yang Diinduksi Aloksan. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal Of Applied Chemistry)*, 2017, 5 (2), 94, 101.
- Fadilah, N.N., Agustien, G.S., Suhardiana, E. and Krisdwiyantika, F., 2023. Acute Toxicity Screening of Katuk Leaf Extract (*Breynia androgyna* (L.) Chakrab. & NP Balakr) in Mice (*Mus musculus*) Using the Thompson and Weil Methods. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 7(3).
- Fénelon, M., Catros, S., Meyer, C., Fricain, J.C., Obert, L., Auber, F., Louvrier, A. and Gindraux, F., 2021. Applications of human amniotic membrane for tissue engineering. *Membranes*, 11(6), p.387.
- Finnerty, C.C., Jeschke, M.G., Branski, L.K., Barret, J.P., Dziewulski, P. and Herndon, D.N., 2016. Hypertrophic scarring: the greatest unmet challenge after burn injury. *The Lancet*, 388(10052), pp.1427-1436.
- Firlar, I., Altunbek, M., McCarthy, C., Ramalingam, M., & Camci-Unal, G. (2022). Functional Hydrogels for Treatment of Chronic Wounds. *Gels* (Basel, Switzerland), 8(2), 127. <https://doi.org/10.3390/gels8020127>
- Frieda, Julianto I, Dharmawan N, Kusumawardani A, Ellistasari Endra Y. Gambaran Deposisi Kolagen Tipe I Terhadap Usia Tikus Galur Wistar: Penelitian In Vivo. 2022. *Medika Kartika*.5(2):183-194. Available from: URL :https://www.researchgate.net/publication/361729511_GAMBARAN_DEPOSI_SI_KOLAGEN_TIPE_I_TERHADAP_USIA_TIKUS_GALUR_WISTAR_PENELITIAN_IN_VIVO
- Fuadi A, Yanto A. 2022. Penggunaan Madu Dalam Perawatan Luka Kronis Diabetes Mellitus. *Ners Muda*. 3(2):1-9. Available from: URL: <https://jurnal.unimus.ac.id/index.php/nersmuda/article/view/8332/pdf>
- Hakim, R.F., Fakhurrazi, F., Rezeki, S., Sari, L.M. and Marfirah, Z., 2020. Hemostatic and Wound Healing Effects of *Gracilaria verrucosa* Extract Gel in Albino Rats: doi. org/10.26538/tjnpr/v4i11. 12. *Tropical Journal of Natural Product Research (TJNPR)*, 4(11), pp.912-917.
- Haryanto, H. and Swantomo, D., 2019, March. Modification of polyethylene oxide-polyethylene glycol dimethacrylate hydrogel film by the addition of *Jatropha multifida* sap for wound dressing application. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2085, No. 1). AIP Publishing.
- Krivoshiev, B.V., Beemster, G.T., Sprangers, K., Cuyper, B., Laukens, K., Blust, R. and Husson, S.J., 2018. Toxicogenomics of the flame retardant tris (2-

- butoxyethyl) phosphate in HepG2 cells using RNA-seq. *Toxicology in vitro*, 46, pp.178-188.
- Leal-Marin, S., Kern, T., Hofmann, N., Pogozykh, O., Framme, C., Börgel, M., Figueiredo, C., Glasmacher, B. and Gryshkov, O., 2021. Human Amniotic Membrane: A review on tissue engineering, application, and storage. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 109(8), pp.1198-1215.
- Lina, R.N., Wijaya, H.M. and Fuadah, S., 2022. Aktivitas Infusa Daun Pisang Susu (*Musa Acuminata Colla*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Jantan (*Mus Musculus*) Yang Diinduksi Aloksan. *Sains Medisina*, 1(1), pp.49-55.
- Martihandini, N., Denada, D. and Sutiswa, S.I., 2023. Formulation of Spray Gel Hand Sanitizer from Citronella Oil Using Gelling Agent Carbopol 940 and Humectant Propylene Glycol. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(3).
- Nabillah S, Noval, Hidayah N. Formulasi dan Evaluasi Hidrogel Ekstral Daun Serunai (*Chromolaena odorata L.*) Dengan Variasi Konsentrasi Polimer Carbopol 980. 2022. *Jiis*. 9 7(2):340-349. Doi : 10.36387/jiis.v7i2.995
- Nasiry D, Khalatbary R A, Abdollahifar A M, Amini A, Bayat M, Noori A, Piryaei A. Engraftment of bioengineered three-dimensional scaffold from human amniotic membrane-derived extracellular matrix accelerates ischemic diabetic wound healing. *Archives of Dermatological Research*. Available from: URL: <https://doi.org/10.1007/s00403-020-02137-3>
- Ou, Q., Zhang, S., Fu, C., Yu, L., Xin, P., Gu, Z., Cao, Z., Wu, J. and Wang, Y., 2021. More natural more better: triple natural anti-oxidant puerarin/ferulic acid/polydopamine incorporated hydrogel for wound healing. *Journal of Nanobiotechnology*, 19, pp.1-12.
- Permatasari, 2016 Sintesis Dan Karakterisasi Hidrogel Superabsorben (Sap) Berbasis Poli (Vinil Alkohol-Ko-Etilen Glikol) Universitas Pendidikan Indonesia Repository.Upi.Edu Perpustakaan.Upi.Edu
- Purnama, Y.H.C., Mastutik, G. and Putra, S.T., 2018. Increased Activity Of Mature Osteoblast from Rat Bone Marrow-Mesenchymal Stem Cells tn Osteogenic Medium Exposed to Melatonin. *Folia Medica Indonesiana*, 54(4), pp.282-288.
- Puspita, I. and Kurniati, M., 2022. Sifat Mekanik dan Densitas Ikatan Silang Hidrogel Berbasis Tapioka Nanopartikel. *Jurnal Riset Fisika Indonesia*, 3(1), pp.32-42.
- Rashmi, R., 2020. *Bioengineered skin grafts for chronic wounds using 3-dimensional hybrid scaffolds made up of silk fibroin, fibrin composite and amnion* (Doctoral dissertation, SCTIMST).

- Sepantafar, M., Maheronnaghsh, R., Mohammadi, H., Radmanesh, F., Hasani-Sadrabadi, M.M., Ebrahimi, M. and Baharvand, H., 2017. Engineered hydrogels in cancer therapy and diagnosis. *Trends in biotechnology*, 35(11), pp.1074-1087.
- Sumbayak, E. M. (2015). Fibroblast: struktur dan peranannya dalam penyembuhan luka. *Jurnal Kedokteran*, 21(57): 1-6
- Sun, H., Saeedi, P., Karuranga, S., Pinkepank, M., Ogurtsova, K., Duncan, B.B., Stein, C., Basit, A., Chan, J.C., Mbanya, J.C. and Pavkov, M.E., 2022. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes research and clinical practice*, 183, p.109119.
- Yuslianti, E.R. and Ramadhanty, D.D., 2023. The Effect of Rambutan Honey Toothpaste On The Diameter Of The Inhibition Zone For The Growth Of *Staphylococcus aureus*. *SONDE (Sound of Dentistry)*, 8(1), pp.1-12.
- World Health Organization. Pengetian DM. [serial online] 2022 [cited 2024 Mar 2]. Available from: URL: <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/diabetes>.