

**PERBEDAAN PENYEMBUHAN LUKA SAYAT SECARA MAKROSKOPIS
ANTARA PEMBERIAN TOPIKAL EKSTRAK SEL PUNCA MESENKIMAL
TALI PUSAT MANUSIA DENGAN GEL BIOPLACENTON PADA TIKUS
PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley***

(Skripsi)

**Oleh
NIDA NABILAH NUR**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017**

**PERBEDAAN PENYEMBUHAN LUKA SAYAT SECARA MAKROSKOPIS
ANTARA PEMBERIAN TOPIKAL EKSTRAK SEL PUNCA MESENKIMAL
TALI PUSAT MANUSIA DENGAN GEL BIOPLACENTON PADA TIKUS
PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley***

**Oleh
NIDA NABILAH NUR**

**Skripsi
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

**Pada
Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017**

ABSTRACT

THE DIFFERENCE OF MACROSCOPIC INCISE WOUND HEALING BETWEEN THE TOPICAL ADMINISTRATION OF HUMAN UMBILICAL CORD MESENCHYMAL STEM CELLS AND BIOPLACENTON GEL IN *Sprague dawley* WHITE MALE RATS (*Rattus norvegicus*)

By

NIDA NABILAH NUR

Background: Wound healing, is a normal biological process that occurs in the body when it injured. Is achieved through four phases: inflammation, destruction, proliferation, and maturation. Bioplacenton, a gel containing ex bovine placental extract 10% and neomycin sulfate 0.5%, can be used for wound healing. Nowadays, other therapies have been developed to aid wound healing, including human umbilical cord mesenchymal stem cells (WJMSCs) therapy. This research intend to find out the wound healing difference between WJMSCs extract and Bioplacenton which cover wound healing time, local infection, and allergic reactions.

Method: This was an experimental study using 18 *Sprague dawley* white male rats, grouped into three different treatments, group K: negative control (aquadest), group P1: WJMSCs extract, and group P2: Bioplacenton. Incised wound observed for 14 days, and the data were analyzed using descriptive categoric statistic test and one way ANOVA.

Results: Healing time average incise wound group K: 10.67 days, P1: 7.33 days, and P2: 9.83 days. 100% proportion in the category of no local infection and no allergic reactions.

Conclusion: There are significant difference wound healing time between WJMSCs extract and Bioplacenton with $p= 0.028$ and there is no local infection and allergic reactions.

Key words: Bioplacenton, human umbilical cord mesenchymal stem cells, incise wound, wound healing

ABSTRAK

PERBEDAAN PENYEMBUHAN LUKA SAYAT SECARA MAKROSKOPIS ANTARA PEMBERIAN TOPIKAL EKSTRAK SEL PUNCA MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA DENGAN GEL BIOPLACENTON PADA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley*

Oleh

NIDA NABILAH NUR

Latar Belakang: Penyembuhan luka merupakan proses biologis normal yang terjadi dalam tubuh saat mengalami luka. Secara umum dibagi ke dalam empat fase yaitu inflamasi, destruksi, proliferasi, dan maturasi. Bioplacenton merupakan gel yang mengandung ekstrak plasenta *ex bovine* 10% dan neomisin sulfat 0.5% yang dapat digunakan untuk penyembuhan luka. Saat ini telah dikembangkan terapi lain untuk membantu proses penyembuhan luka, diantaranya terapi menggunakan sel punca mesenkimal tali pusat manusia (WJMSCs). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan penyembuhan luka sayat antara ekstrak WJMSCs dengan gel Bioplacenton yang meliputi waktu penyembuhan luka, infeksi lokal, dan reaksi alergi.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan 18 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley* yang dikelompokkan menjadi tiga perlakuan berbeda. Perlakuan dibagi atas kelompok K: kontrol negatif (akuades), P1: ekstrak WJMSCs, dan P2: Bioplacenton. Pengamatan terhadap luka sayat dilakukan selama 14 hari dan kemudian data dianalisis menggunakan uji statistik deskriptif kategorik dan *one way* ANOVA.

Hasil: Rata-rata waktu penyembuhan luka sayat kelompok K: 10.67 hari, P1: 7.33 hari, dan P2:9.83 hari. 100% proporsi berada pada kategori tidak ada infeksi lokal dan tidak ada reaksi alergi.

Simpulan: Terdapat perbedaan waktu penyembuhan luka sayat antara ekstrak WJMSCs dengan Bioplacenton secara bermakna dengan $p= 0.028$ dan tidak ada infeksi lokal ataupun reaksi alergi yang terjadi.

Kata kunci: Bioplacenton, ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia, luka sayat, penyembuhan luka.

Judul Skripsi : PERBEDAAN PENYEMBUHAN LUKA SAYAT
SECARA MAKROSKOPIS ANTARA
PEMBERIAN TOPIKAL EKSTRAK SEL
PUNCA MESENKIMAL TALI PUSAT
MANUSIA DENGAN GEL BIOPLACENTON
PADA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus
norvegicus*) GALUR *Sprague dawley*

Nama Mahasiswa : Nida Nabilah Nur

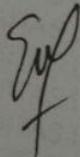
No. Pokok Mahasiswa : 1318011119

Program studi : Pendidikan Dokter

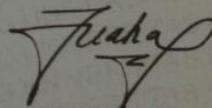
Fakultas : Kedokteran

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing



dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc
NIP 19760120 200312 2 001



dr. Ratna Dewi P.S., S.Ked., Sp. OG
NIP 19800415 201404 2 001

2. Dekan Fakultas Kedokteran

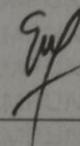


Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA
NIP 19701208 200112 1 001

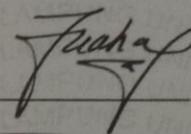
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

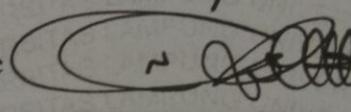
Ketua : **dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc**



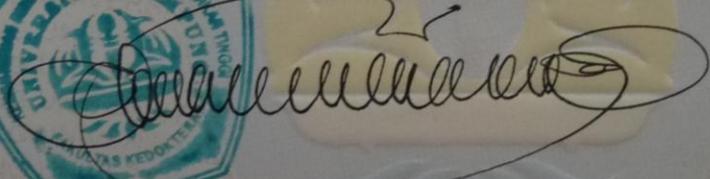
Sekretaris : **dr. Ratna Dewi P.S., S.Ked., Sp.OG**



Penguji
Bukan Pembimbing : **dr. Novita Carolia, S.Ked., M.Sc**



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA
NIP 19701208 200112 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **13 Januari 2017**

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul “PERBEDAAN PENYEMBUHAN LUKA SAYAT SECARA MAKROSKOPIS ANTARA PEMBERIAN TOPIKAL EKSTRAK SEL PUNCA MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA DENGAN GEL BIOPLACENTON PADA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley*” adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hak intelektualitas atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata deitemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandarlampung, Januari 2017

Pembuat pernyataan,



[Handwritten signature]

h.h.

Nida Nabilah Nur

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Kabupaten Serang, Provinsi Banten pada tanggal 15 Maret 1995. Penulis merupakan putri pertama sekaligus putri tunggal dari pasangan Bapak Darwinur dan Ibu Suhaesti.

Penulis menempuh pendidikannya di Taman Kanak-Kanak (TK) Ananda pada tahun 1999 sampai tahun 2000, Sekolah Dasar Islam Terpadu (SDIT) Al-Izzah tahun 2000-2006, Sekolah Menengah Pertama (SMP) dan Sekolah Menengah Atas (SMA) Islam Nurul Fikri Boarding School tahun 2006-2012.

Tahun 2013, Penulis diterima sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) tertulis. Selama menjadi mahasiswa, Penulis aktif dalam lembaga kemahasiswaan Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) periode 2014/2015 dan 2015/2016 sebagai staff bidang Pengembangan Sumber Daya Manusia dan Organisasi (PSDMO) serta aktif dalam Perhimpunan Mahasiswa Pecinta Alam Tanggap Darurat (PMPATD) Pakis Rescue Team periode 2014/2015 dan 2015/2016 sebagai anggota divisi Pendidikan dan Pelatihan.

***Bukan bahagia yang membuat kita bersyukur,
tapi bersyukurlah yang membuat kita bahagia.
Kupersembahkan karya ini untuk kedua orang tuaku
tercinta, Umi dan Abi. Tanpa do'a dan cinta kalian,
aku tak akan bisa melangkah sejauh ini...***

***“Yaa Muqollibal Quluub..
Wahai Dzat yang membolak-balikkan hati,
teguhkanlah hatiku ini pada agama-Mu dan
ketaatan kepada-Mu”***

Manusia yang hati dan tubuhnya tidak saling berhubungan tidak bisa disebut manusia.
-Tony Tony Chopper

Jangan takut untuk bermimpi karena mimpi adalah tempat menanam benih harapan dan memetakan cita-cita.
-Monkey D. Luffy

SANWACANA

Segala puji hanya milik Allah SWT yang telah memberikan begitu banyak nikmat sehingga penelitian ini dapat penulis selesaikan. Tiada kata yang pantas terucap selain shalawat dan salam kepada Nabi Muhammad SAW, keberadaannya membuat hati menjadi tenang walau belum pernah bertemu dengannya.

Atas kehendak dan karunia Allah, Alhamdulillah penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Perbedaan Penyembuhan Luka Sayat Secara Makroskopis Antara Pemberian Topikal Ekstrak Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia Dengan Gel Bioplacenta Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley*” sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Universitas Lampung.

Penulis meyakini pembuatan skripsi ini tidak akan selesai tanpa dukungan dan bantuan dari banyak pihak. Oleh karena itu, penulis sampaikan ucapan terima kasih kepada:

- Bapak Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P. selaku Rektor Universitas Lampung
- Dr. dr. Muhartono, S. Ked., M.Kes., Sp. PA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung
- dr. Evi Kurniawaty, S. Ked., M. Sc selaku pembimbing utama atas kesediannya memberikan bimbingan, saran, kritik dan segala dukungan moral maupun finansial dalam proses penyelesaian skripsi ini

- dr. Ratna Dewi Puspita Sari, S. Ked., Sp. OG selaku pembimbing kedua atas kesediaannya memberikan bimbingan, saran, dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi ini
- dr. Novita Carolia, S. Ked., M. Sc selaku penguji utama atas waktu, ilmu, saran, serta kritikan membangun yang telah diberikan dalam proses penyelesaian skripsi ini
- Bapak Drs. H. Darwinur dan Ibu Hj. Suhaesti, yang paling spesial dalam persembahan ini, orang tua penulis atas segala doa dan dukungan yang tidak pernah putus. Semoga hasil penelitian ini menjadi ilmu yang berbuah pahala bagi mereka berdua
- Keluarga besar penulis tercinta atas segala doa dan dukungan, terkhusus Bibiku Diana Sri Lestari dan Ilah Susilawati yang telah bersedia memberikan tali pusatnya untuk digunakan dalam penelitian ini
- dr. Syazili Mustofa, M. Biomed dan Bu Nuriah, A. Md atas segala bantuan dan bimbingannya dalam pembuatan ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia
- Seluruh Dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu dan inspirasi yang telah diberikan sebagai landasan untuk mencapai cita-cita
- Seluruh staf dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung
- Firza Syailindra dan Muhammad Gilang selaku rekan satu penelitian, tanpa kalian penulis tidak akan menyelesaikan penelitian ini
- Sahabat *Kuah Ketoprak* Christine Yohana, Fadel M Ikrom, Faridah Alatas, Fauziah Lubis, Firza Syailindra, Fuad Iqbal Elka Putra, Hanifah Hanum, Indrani Nur Winarno Putri, Marco Manza Adi Putra, Meti Destriyana,

Sayyidatun Nisa, Tito Tri Saputra, Wahidatur Rohmah, Zahra Wafiyatunisa, Zulfa Labibah atas segala dukungan dan hiburan yang telah diberikan. Terima kasih telah membuat perjalananku menuju sarjana menjadi berwarna

- Teman-teman KKN Parda Waras Kecamatan Semaka yang telah memberi kehidupan baru, pelajaran baru, dan kebersamaan selama 60 hari hingga saat ini
- Teman-teman angkatan 2013 CERE13ELLUMS yang tidak bisa disebutkan satu persatu, atas makna kebersamaan dan motivasi belajar selama ini.

Penulis menyadari sripsi ini masih memiliki banyak kekurangan dan jauh dari sempurna, namun penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat dan pengetahuan baru kepada setiap orang yang membacanya.

Bandarlampung, Januari 2017

Penulis

Nida Nabilah Nur

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat bagi Penulis	5
1.4.2 Manfaat bagi Peneliti Lain	6
1.4.3 Manfaat bagi Instansi Terkait.....	6
1.4.4 Manfaat bagi Masyarakat	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Struktur dan Fungsi Kulit.....	7
2.1.1 Epidermis	8
2.1.2 Dermis.....	8
2.1.3 Subkutis.....	9
2.2 Luka	10
2.2.1 Definisi Luka	10
2.2.2 Klasifikasi Luka	10
2.2.3 Proses Penyembuhan Luka	15
2.3 Bioplacenton	19
2.4 Sel Punca.....	21
2.5 <i>Human Umbilical Cord Stem Cells</i>	26
2.6 Gambaran Umum Hewan Coba	27
2.7 Kerangka Penelitian	30
2.7.1 Kerangka Teori	30
2.7.2 Kerangka Penelitian	31
2.8 Hipotesis	31

BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Jenis Penelitian.....	32
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	32
3.3 Subjek Penelitian.....	33
3.3.1 Populasi Penelitian.....	33
3.3.2 Sampel Penelitian.....	33
3.4 Rancangan Penelitian.....	35
3.5 Identifikasi Variabel Penelitian.....	35
3.5.1 Variabel Bebas.....	35
3.5.2 Variabel Terikat.....	36
3.6 Definisi Operasional Variabel Penelitian.....	36
3.7 Alat dan Bahan.....	37
3.7.1 Alat Penelitian.....	37
3.7.2 Bahan Penelitian.....	38
3.8 Cara Kerja.....	38
3.8.1 Tahap Persiapan.....	38
3.8.2 Tahap Pengujian.....	41
3.9 Alur Penelitian.....	43
3.10 Pegolahan dan Analisis Data.....	44
3.11 Kaji Etik.....	45
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Penelitian.....	46
4.1.1 Waktu Penyembuhan Luka.....	46
4.1.2 Infeksi Lokal.....	52
4.1.3 Reaksi Alergi.....	53
4.2 Pembahasan.....	55
4.3 Keterbatasan Penelitian.....	60
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	61
5.2 Saran.....	62
DAFTAR PUSTAKA.....	64

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Informasi Bioplacenton.....	20
2. Definisi Operasional Variabel Penelitian.....	36
3. Skor Penilaian Makroskopis	42
4. Gambar Proses Penyembuhan Luka Sayat Pada Sampel.....	47
5. Lama Waktu Penyembuhan Luka Sampel	49
6. Proporsi dan IK 95% Waktu Penyembuhan Luka	49
7. Perbedaan Waktu Penyembuhan luka Antarkelompok.....	51
8. Analisis <i>Post Hoc</i> Perbedaan Waktu Penyembuhan Luka.....	51
9. Hasil Penilaian Infeksi Lokal	52
10. Proporsi dan IK 95% Infeksi Lokal	53
11. Hasil Penilaian Reaksi Alergi	54
12. Proporsi dan IK 95% Reaksi Alergi.....	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Kulit	10
2. Luka Superfisial, Luka <i>Partial-thickness</i> , Luka <i>Full-thickness</i>	12
3. Kerangka teori.....	30
4. Kerangka konsep.....	31
5. Alur penelitian	43
6. Diagram Proporsi Waktu Penyembuhan Luka (Frekuensi)	50
7. Diagram Proporsi Infeksi Lokal (Frekuensi)	53
8. Diagram Proporsi Reaksi Alergi (Frekuensi).....	55

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Luka merupakan kondisi yang pasti pernah dialami oleh setiap manusia. Luka adalah suatu kerusakan bagian tubuh yang terjadi pada kulit berupa jaringan yang terputus, robek, atau rusak oleh karena suatu sebab (Librianty, 2015). Dalam ilmu traumatologi terdapat beberapa kategori luka, diantaranya kategori luka berdasarkan penyebabnya, seperti luka sayat, luka memar, luka tusuk, luka lecet, dan luka robek (Wombeogo & Kuubire, 2014). Luka sayat biasanya disebabkan oleh benda tajam seperti pisau, pisau cukur, atau pisau bedah pada proses operasi ditandai dengan tepi luka berupa garis lurus dan beraturan (Wombeogo & Kuubire, 2014).

Secara normal, luka akan sembuh melalui serangkaian proses yang kompleks dan dinamis. Proses tersebut dibagi ke dalam empat fase utama yaitu fase respons inflamasi akut terhadap cedera, fase destruktif, fase proliferasi, dan fase maturasi (Wombeogo & Kuubire, 2014). Namun pada kenyataannya, antara fase satu dan selanjutnya dapat saling tumpang tindih. Hal tersebut terjadi bergantung pada beberapa faktor yang berkaitan seperti

kondisi lokal luka, kondisi patofisiologi umum, pengaruh fisiologis dari proses penuaan normal, psikososial, dan lainnya (Morison, 2004).

Proses penyembuhan luka menjadi penting karena kulit merupakan organ tunggal yang terpapar dengan dunia luar. Kulit memiliki fungsi spesifik bagi tubuh, yaitu fungsi protektif, sensorik, termoregulatorik, metabolik, dan sinyal seksual. Ketika kulit kehilangan kontinuitasnya, maka fungsi-fungsi tersebut tidak dapat berjalan seperti seharusnya (Mescher, 2012). Oleh karena itu, proses penyembuhan luka memerlukan manajemen serta pengobatan yang tepat agar area luka tidak menjadi terinfeksi dan pada akhirnya menimbulkan luka kronis (Morison, 2004).

Bioplacenton merupakan salah satu gel yang dapat digunakan untuk penyembuhan luka. Bioplacenton mengandung ekstrak plasenta 10% dan neomisin sulfat 0.5%. Ekstrak plasenta bekerja memicu pembentukan jaringan baru dan neomisin sulfat mencegah infeksi pada area luka (Kalbemed, 2013).

Saat ini selain obat antiseptik yang banyak digunakan di pasaran, telah banyak pengobatan alternatif yang diteliti dan dikembangkan untuk membantu proses penyembuhan luka. Penelitian tersebut diantaranya dilakukan oleh Prasetyo (2010) tentang pemberian sediaan gel ekstrak batang pisang ambon yang mempercepat proses penyembuhan luka pada mencit. Selain itu, telah dikembangkan juga terapi menggunakan sel punca (*stem cell*) yang memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai sel lain. Menurut asalnya sel punca diklasifikasikan ke dalam empat kelompok, diantaranya adalah sel punca ekstraembrional. Sel punca ekstraembrional dapat diperoleh dari

plasenta, *Wharton jelly* dalam tali pusat, dan darah dari tali pusat segera setelah lahir (Yuliana & Suryani, 2012).

Terapi menggunakan tali pusat telah dikembangkan sejak tahun 1988 yang dilakukan pada seorang anak penderita anemia Fanconi di Paris. Sejak itu, berkembanglah minat dunia sains untuk meneliti lebih dalam tentang potensi yang terkandung di dalamnya (Prayogo & Wijaya, 2006). Tali pusat menjadi sumber sel punca yang penting, baik itu *haematopoietic stem cells* ataupun *mesenchymal stem cells*. *Mesenchymal stem cells* yang dapat diekstrak dari jaringan tali pusat memiliki kemampuan untuk memperbarui diri dan efektif untuk menyembuhkan luka bersamaan dengan proses normal penyembuhan luka itu sendiri (Nan *et al.*, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Nan (2015) menyebutkan bahwa sel punca mesenkimal tali pusat manusia yang dikombinasi dengan material *double layered* kolagen-fibrin berperan dalam perbaikan dan penyembuhan luka.

Berdasarkan penjelasan diatas, penelitian lebih lanjut untuk mempelajari potensi tali pusat sebagai terapi sel punca adalah suatu hal yang menarik dan dapat memberi manfaat. Penelitian untuk mempelajari perbedaan antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dan gel bioplacenta yang mengandung ekstrak plasenta 10% akan dilaksanakan melalui penilaian makroskopis luka yang meliputi waktu penyembuhan luka, infeksi lokal, dan reaksi alergi dengan model hewan coba tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

- a. Apakah terdapat perbedaan waktu penyembuhan luka sayat antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan gel bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*?
- b. Apakah terdapat infeksi lokal pada penyembuhan luka sayat antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan gel bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*?
- c. Apakah terdapat reaksi alergi pada penyembuhan luka sayat antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan gel bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui perbedaan penyembuhan luka sayat secara makroskopis antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan gel bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang meliputi waktu penyembuhan luka, infeksi lokal, dan reaksi alergi.

1.3.2 Tujuan Khusus

Adapun tujuan khusus dari penelitian ini adalah:

- a. Mengetahui perbedaan waktu penyembuhan luka sayat antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan gel bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.
- b. Mengetahui apakah terdapat infeksi lokal pada penyembuhan luka sayat antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan gel bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.
- c. Mengetahui apakah terdapat reaksi alergi pada penyembuhan luka sayat antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan gel bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat bagi Penulis

Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi ilmiah terhadap perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya tentang perbedaan penyembuhan luka sayat secara makroskopis antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan gel bioplacenton yang meliputi waktu penyembuhan luka, infeksi lokal, dan reaksi alergi

1.4.2 Manfaat bagi Peneliti Lain

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada penyembuhan luka.

1.4.3 Manfaat bagi Instansi Terkait

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah serta masukan pengembangan terapi untuk penyembuhan luka sayat.

1.4.4 Manfaat bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan bagi masyarakat luas mengenai pengobatan luka sayat menggunakan ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Struktur dan Fungsi Kulit

Kulit merupakan organ terbesar dalam tubuh manusia yang memiliki luas permukaan 1.5 – 2 m² dan berat 15-20% dari berat badan total pada orang dewasa (Thomas, 2010; Mescher, 2012). Kulit memiliki fungsi kompleks yang berperan penting dalam pertahanan tubuh kita dengan bertindak sebagai pelindung fisik (melindungi tubuh dari bahan kimia berbahaya, radiasi sinar UV, dan gaya mekanik), pelindung imunologik (melindungi tubuh dari mikroorganisme patogen), pengaturan suhu tubuh, dan pembentukan vitamin D (Thomas, 2010; Rihatmadja, 2015). Selain itu, kulit juga memiliki fungsi ekskresi, pengindra, dan kosmetik (Rihatmadja, 2015).

Kulit terdiri dari tiga lapisan fungsional, yaitu dermis, epidermis, dan subkutis (Thomas, 2010; Rihatmadja, 2015). Struktur utama yang terkandung dalam kulit terletak di dermis, namun kelenjar keringat dan folikel rambut berkomunikasi dengan dunia luar melalui epidermis (Thomas, 2010). Dalam menjalankan beberapa fungsinya, ketiga lapisan tersebut menjadi suatu kesatuan yang saling terkait satu dengan yang lain (Rihatmadja, 2015).

2.1.1 Epidermis

Lapisan epidermis adalah lapisan kulit yang dinamis, senantiasa beregenerasi, dan berespon terhadap rangsangan di luar maupun dalam tubuh manusia. Lapisan epidermis memiliki tebal sekitar 0.1 mm, tetapi bervariasi antara 0.04 mm pada kelopak mata sampai 1.5 mm pada telapak kaki (Thomas, 2010). Penyusun terbesar lapisan ini adalah keratinosit, diantaranya terdapat sel Langerhans, melanosit, dan terkadang sel Merkel serta limfosit (Rihatmadja, 2015).

Keratinosit tersusun dari beberapa lapisan. Lapisan paling bawah yaitu stratum basalis, di atasnya berturut-turut adalah stratum spinosum dan stratum granulosum. Ketiga lapisan tersebut dikenal sebagai stratum Malphigi (Rihatmadja, 2015). Lapisan teratas adalah stratum korneum yang terdiri dari sel-sel keratinosit yang telah mati. Susunan epidermis yang berlapis-lapis menggambarkan proses diferensiasi yang dinamis sebagai sawar kulit untuk melindungi tubuh dari ancaman di permukaan (Rihatmadja, 2015).

2.1.2 Dermis

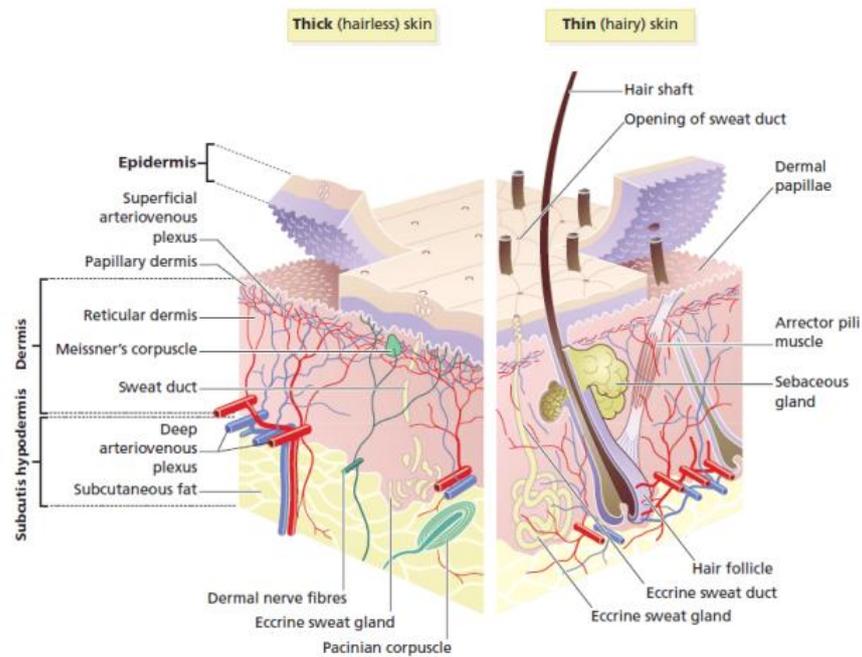
Dermis merupakan jaringan di bawah epidermis yang berfungsi memberi ketahanan pada kulit, termoregulasi, perlindungan imunologik, dan ekskresi. Fungsi-fungsi tersebut dapat terlaksana karena elemen yang berada pada dermis, yaitu struktur fibrosa dan filamentosa, substansi dasar, dan selular yang terdiri atas endotel, fibroblas, sel radang, kelenjar folikel rambut dan saraf (Rihatmadja, 2015).

Sebagian besar lapisan dermis tersusun atas serabut kolagen yang bersama-sama dengan serabut elastik memberikan kulit kekuatan dan keelastisan. Kedua serabut tersebut tertanam dalam matriks yang disebut substansi dasar yang terbentuk dari proteoglikan (PG) dan glikosaminoglikan (GAG) (Rihatmadja, 2015). PG dan GAG berperan dalam pengaturan cairan dalam kulit karena kemampuannya menyerap dan mempertahankan air dalam jumlah yang besar. Selain itu, PG dan GAG juga berperan mempertahankan *growth factors* dalam jumlah besar (Rihatmadja, 2015).

Fibroblas, makrofag, dan sel mast juga ditemukan dalam lapisan dermis. Fibroblas merupakan sel yang memproduksi protein matriks jaringan ikat, serabut kolagen, dan serabut elastik. Makrofag adalah salah satu elemen pertahanan imunologik pada kulit yang mampu bertindak sebagai fagosit, sel penyaji antigen, maupun mikrobisidal dan tumorisidal (Rihatmadja, 2015).

2.1.3 Subkutis

Subkutis terdiri atas jaringan lemak yang mampu mempertahankan suhu tubuh, menyimpan cadangan energi, dan menyediakan bantalan yang meredam trauma melalui permukaan kulit (Rihatmadja, 2015). Lapisan subkutis berkaitan erat dengan pembuluh darah untuk memastikan pengiriman nutrisi yang disimpan di kulit (Thomas, 2010).



Gambar 1. Struktur kulit. (Sumber: <https://www.boundless.com/physiology/textbooks/>).

2.2 Luka

2.2.1 Definisi Luka

Luka adalah hilang atau rusaknya sebagian jaringan tubuh yang dapat disebabkan oleh trauma benda tajam atau tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, atau gigitan hewan (Hasibuan *et al.*, 2010). Definisi lain menyebutkan bahwa luka adalah sebuah manifestasi yang terlihat dari suatu peristiwa yang menyebabkan gangguan integritas kulit dan/atau kerugian penting dari fungsi protektif atau fisiologis kulit (Thomas, 2010).

2.2.2 Klasifikasi Luka

Luka dapat diklasifikasikan berdasarkan sifat, struktur anatomis, proses penyembuhan, lama penyembuhan, serta kedalaman dan luasnya luka (Kartika, 2015; Thomas, 2010).

2.2.2.1 Berdasarkan Sifat

Berdasarkan sifatnya, luka dibagi menjadi luka abrasi, kontusio, insisi, laserasi, penetrasi, *puncture*, sepsis, dan lain-lain (Kartika, 2015).

a. Abrasi

Merupakan cedera ringan pada bagian superfisial kulit yang terjadi karena goresan antara kulit dengan benda yang keras atau memiliki permukaan yang kasar (Thomas, 2010).

b. Kontusio

Disebut juga luka memar. Merupakan akibat dari trauma yang merusak struktur dalam kulit tanpa merusak lapisan luar kulit. Biasanya terjadi karena benturan oleh suatu tekanan (Thomas, 2010).

c. Insisi

Merupakan luka dengan gambaran garis tepi luka yang rapi, seperti luka ringan yang terjadi akibat irisan oleh instrumen tajam atau insisi saat pembedahan (Wombeogo & Kuubire 2014; Thomas 2010).

d. Laserasi

Merupakan luka gores yang lebih parah dari luka abrasi, biasanya melibatkan seluruh lapisan kulit dan jaringan lunak dibawahnya (Thomas, 2010).

e. Penetrasi

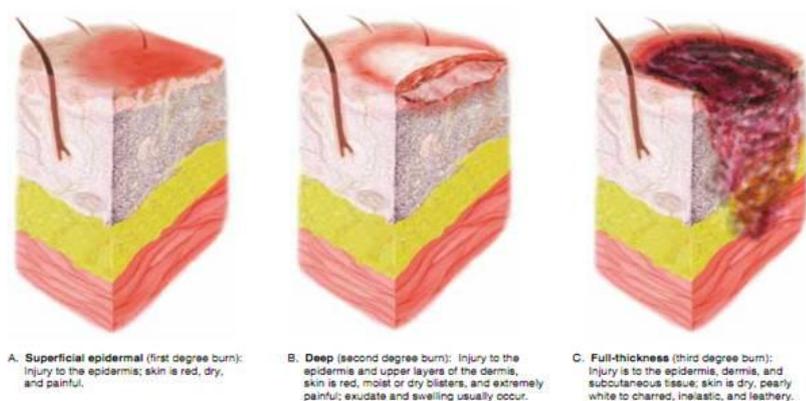
Terjadi akibat benda seperti pisau, peluru, atau kecelakaan yang menembus kulit bahkan bagian tubuh (Thomas, 2010).

f. *Puncture*

Terjadi akibat adanya benda dengan diameter yang kecil seperti jarum yang masuk ke dalam kulit (Thomas, 2010).

2.2.2.2 Berdasarkan Struktur Anatomis

Berdasarkan struktur anatomisnya, luka diklasifikasikan menjadi luka superfisial yang meliputi bagian superfisial kulit yaitu epidermis (terkadang dapat sampai ke lapisan atas dermis), luka *partial thickness* yang melibatkan lapisan epidermis dan dermis, serta luka *full thickness* yang melibatkan seluruh lapisan kulit dari mulai epidermis, dermis, lapisan lemak, *fascia*, bahkan sampai ke tulang (Dealey & Cameron, 2008; Kartika, 2015).



Gambar 2. A. Luka Superfisial, B. Luka *Partial-thickness*, C. Luka *Full thickness*. (Sumber: http://intranet.tdmu.edu.ua/data/kafedra/internal/i_nurse/).

2.2.2.3 Berdasarkan Proses Penyembuhan

Berdasarkan proses penyembuhannya, luka dapat diklasifikasikan menjadi tiga, yaitu (Kartika, 2015):

a. Penyembuhan Primer

Pada proses penyembuhan primer tepi luka bisa menyatu kembali, permukaan bersih, dan tidak ada jaringan yang hilang. (Kartika, 2015). Penyembuhan primer terjadi bila luka segera diupayakan bertaut, biasanya dengan bantuan jahitan. Jaringan granulasi yang dihasilkan sangat sedikit, dan biasanya jaringan parut yang terbentuk pada proses ini lebih halus dan kecil (Hasibuan, *et al.*, 2010; Morison, 2004).

b. Penyembuhan Sekunder

Penyembuhan sekunder terjadi ketika tepi kulit terpisah jauh dan sebagian jaringan hilang. Proses penyembuhan berlangsung mulai dari pembentukan jaringan granulasi di dasar luka dan sekitarnya (Dealey & Cameron, 2008; Kartika, 2015). Jaringan granulasi yang terdiri atas kapiler-kapiler darah baru yang disokong oleh jaringan ikat terbentuk di dasar luka dan sel-sel epitel melakukan migrasi ke pusat permukaan luka (Morison, 2004) . Daerah permukaan luka menjadi lebih kecil akibat suatu proses yang dikenal sebagai kontraksi dan jaringan ikat disusun kembali hingga membentuk jaringan yang bertambah kuat. Pada penyembuhan sekunder akan meninggalkan jaringan parut

yang nyata, bahkan dapat terbentuk jaringan parut keloid (Morison, 2004).

c. *Delayed Primary Healing*

Luka yang terkontaminasi dan/atau tidak berbatas tegas seperti luka tembak tidak dapat langsung dilakukan penjahitan. Luka yang demikian sebaiknya dibersihkan dan dieksisi dahulu kemudian dibiarkan selama 4-7 hari baru selanjutnya dijahit. Cara ini disebut penyembuhan luka tertunda (*delayed primary healing*). Pada proses ini diharapkan luka akan sembuh secara primer (Hasibuan, *et al.*, 2010; Kartika, 2015).

2.2.2.4 Berdasarkan Lama Penyembuhan

a. Akut

Luka dikatakan akut jika penyembuhan terjadi dalam 2-3 minggu (Kartika, 2015). Jika tidak terjadi infeksi, luka akut akan sembuh sesuai dengan prediksi. Luka akut umumnya disebabkan oleh suatu bentuk cedera mekanik atau termal (Thomas, 2010). Cedera mekanik dapat berupa luka seperti abrasi, kontusio, insisi, luka gigit, laserasi, penetrasi dan lainnya yang terjadi secara mekanik (Thomas, 2010). Sedangkan cedera termal dapat dibagi menjadi beberapa tipe yaitu luka bakar, luka sengatan listrik, luka akibat bahan kimia, cedera suhu dingin, dan luka akibat radiasi (Thomas, 2010).

b. Kronis

Luka kronis adalah segala jenis luka yang tidak ada tanda-tanda sembuh dalam jangka lebih dari 4-6 minggu (Kartika, 2015). Luka insisi dapat dikatakan luka akut bila proses penyembuhan berlangsung sesuai dengan proses penyembuhan normal, tetapi dapat dikatakan sebagai luka kronis jika penyembuhan terlambat (*delayed healing*) atau jika menunjukkan tanda-tanda infeksi (Kartika, 2015). Contoh dari luka kronis adalah keganasan, ulkus tungkai, ulkus decubitus, dan ulkus yang berhubungan dengan diabetes (Thomas, 2010).

2.2.3 Proses Penyembuhan Luka

Struktur kulit berubah seiring dengan bertambahnya usia dan perubahan ini dapat mempengaruhi kadar air serta fungsi pertahanan kulit sehingga lebih rentan terhadap iritan. Kemampuan kulit untuk memperbaiki dirinya sendiri pun menjadi berkurang sehingga berpengaruh dalam proses penyembuhan luka (Thomas, 2010).

Proses fisiologis penyembuhan luka dapat dibagi ke dalam empat fase, yaitu fase inflamasi, fase destruktif, fase proliferasi, dan fase maturasi (Morison, 2004; Wombeogo & Kuubire, 2014).

2.2.3.1 Fase inflamasi

Fase inflamasi berlangsung dari mulai terjadinya luka sampai kurang lebih hari ke 3 (Morison, 2004; Wombeogo & Kuubire, 2014). Hal pertama yang terjadi setelah luka adalah

teraktivasinya trombosit (Rodero & Khosrotehrani, 2010). Pembuluh darah yang rusak pada saat terjadi luka akan menyebabkan perdarahan dan tubuh akan menghentikannya dengan vasokonstriksi, pengerutan ujung pembuluh darah yang rusak, dan reaksi hemostasis (Hasibuan, *et al.*, 2010).

Hemostasis terjadi saat trombosit yang keluar dari pembuluh darah saling melekat bersama benang fibrin yang terbentuk kemudian menyumbat pembuluh darah yang rusak. Trombosit yang berlekatan akan berdegranulasi, melepas kemoatraktan yang menarik sel radang, mengaktifkan fibroblas lokal, sel endotel, serta vasokonstriktor (Hasibuan, *et al.*, 2010; Morison, 2004).

Setelah hemostasis, proses koagulasi akan mengaktifkan kaskade komplemen (Hasibuan, *et al.*, 2010). Jaringan yang rusak dan sel mast akan melepaskan histamin, bradikinin, anafilatoksin C3a dan C5a sehingga menyebabkan vasodilatasi pembuluh darah dan peningkatan permeabilitas vaskular. Hal tersebut menyebabkan tanda dan gejala reaksi inflamasi menjadi jelas, yaitu kulit teraba hangat (kalor) dan kemerahan (rubor) karena penyediaan ke daerah yang luka meningkat, edema lokal (tumor) karena cairan yang kaya akan protein mengalir ke dalam ruang interstisial, dan nyeri (dolor) (Hasibuan, *et al.*, 2010; Morison 2004). Sementara itu, leukosit polimorfonuklear dan makrofag melakukan migrasi keluar dari kapiler masuk ke dalam

daerah yang rusak sebagai reaksi terhadap agen kemotaktik yang dipacu oleh adanya cedera (Morison, 2004).

Leukosit mengeluarkan enzim proteolitik yang membantu mencerna bakteri dan luka. Monosit dan limfosit yang kemudian muncul akan membantu menghancurkan serta memakan kotoran luka dan bakteri (fagositosis). Monosit yang kemudian berubah jadi makrofag ini akan menyekresi berbagai macam sitokin dan *growth factor* yang dibutuhkan dalam penyembuhan luka (Hasibuan, *et al.*, 2010).

2.2.3.2 Fase destruktif

Fase destruktif merupakan fase pembersihan terhadap jaringan mati serta bakteri oleh polimorf dan makrofag (Morison, 2004). Fase ini berlangsung sekitar hari ke 2 sampai hari ke 5 setelah luka terjadi (Wombeogo & Kuubire, 2014). Sel-sel tersebut tidak hanya mampu menghancurkan bakteri dan mengeluarkan jaringan yang mengalami devitalisasi serta fibrin yang berlebihan, tetapi mampu merangsang pembentukan fibroblas yang melakukan sintesa struktur protein kolagen dan menghasilkan sebuah faktor yang dapat merangsang angiogenesis (Morison, 2004). Penyembuhan berhenti ketika makrofag mengalami deaktivasi, namun proses penyembuhan terus berlanjut meskipun terdapat pengurangan polimorf dalam jumlah besar (Wombeogo & Kuubire, 2014).

2.2.3.3 Fase proliferasi

Fase proliferasi disebut juga fase fibroplasia karena pada fase ini proses proliferasi sel fibroblas sangat menonjol (Hasibuan, *et al.*, 2010). Fase proliferasi berlangsung sekitar hari ke 3 sampai hari ke 14 setelah terjadinya luka (Wombeogo & Kuubire, 2014; Kartika, 2015). Fibroblas berasal dari sel mesenkim yang belum berdiferensiasi, menghasilkan mukopolisakarida, asam amino glisin, dan prolin yang merupakan bahan dasar serat kolagen yang akan mempertautkan luka (Hasibuan, *et al.*, 2010).

Pada fase proliferasi, luka dipenuhi oleh sel radang, fibroblas, dan kolagen. Pada fase ini juga terjadi pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis), membentuk jaringan berwarna kemerahan dengan permukaan berbenjol halus yang disebut jaringan granulasi (Hasibuan, *et al.*, 2010). Tanda-tanda inflamasi mulai berkurang (Morison, 2004). Epitel tepi luka yang terdiri atas sel basal terlepas dari dasarnya dan berpindah mengisi permukaan luka, sedangkan tempatnya diisi oleh sel baru yang terbentuk dari proses mitosis. Proses fibroplasia dan pembentukan jaringan granulasi berhenti saat seluruh epitel saling menyentuh dan menutup permukaan luka, setelah itu mulailah proses pematangan dalam fase maturasi atau *remodeling* (Hasibuan, *et al.*, 2010).

2.2.3.4 Fase maturasi

Epitelisasi, kontraksi, dan reorganisasi jaringan ikat terjadi dalam fase ini. Fase maturasi berlangsung setelah fase proliferasi berakhir, sekitar hari ke 14 dan bisa sampai 365 hari setelah luka terjadi dan dinyatakan berakhir bila seluruh tanda radang sudah hilang (Morison, 2004; Hasibuan, *et al.*, 2010).

Pada fase ini tubuh berusaha mengembalikan semua yang menjadi abnormal saat proses penyembuhan luka menjadi normal. Edem dan sel radang diserap, sel muda menjadi matang, kapiler baru menutup dan diserap kembali, kolagen yang berlebih diserap dan sisanya mengerut sesuai dengan besarnya regangan (Hasibuan, *et al.*, 2010). Selama proses ini berlangsung, dihasilkan jaringan parut yang pucat, tipis, lentur, dan mudah digerakkan dari dasarnya. Terlihat pengerutan maksimal pada luka dan pada akhir fase ini perupaan luka mampu menahan regangan sampai 80% kemampuan kulit normal (Hasibuan, *et al.*, 2010).

2.3 Bioplacenton

Bioplacenton merupakan antibiotik topikal yang di produksi oleh Kalbe Farma, berupa gel yang mengandung ekstrak plasenta *ex bovine* 10% dan neomisin sulfat 0.5% (MIMS 2016). Ekstrak plasenta bekerja membantu proses penyembuhan luka dan memicu pembentukan jaringan baru, sedangkan neomisin sulfat berfungsi untuk mencegah atau mengatasi infeksi bakteri pada

area luka (Kalbemed, 2013). Informasi lengkap mengenai Bioplacenton® dapat dilihat pada *tabel 1*.

Tabel 1. Informasi Bioplacenton® (MIMS, 2016).

Informasi Terkait	Rincian
Produksi	Kalbe Farma
Distributor	Royal Ruby
Konten	Ekstrak plasenta <i>ex bovine</i> , neomisin sulfat.
Indikasi	Manajemen luka bakar, ulkus kronis, luka dengan penyembuhan dan granulasi yang lambat, ulkus dekubital, eksim, pioderma, impetigo, furunkel, dan infeksi kulit lainnya.
Dosis & Administrasi	Gunakan 4-6 kali sehari dengan mengoleskan tipis pada kulit yang terluka.
Penyimpanan	Simpan pada suhu kamar <30 °C. Lindungi dari panas.
Deskripsi	Setiap tabung 15 g mengandung ekstrak plasenta 10%, neomisin sulfat 0.5%, dan <i>jelly base</i> .
<i>Mechanism of Action</i>	<p>Farmakologi: Bioplacenton adalah ekstrak plasenta khusus yang mengandung stimulator biogenik yang berpengaruh merangsang proses metabolisme sel. Hal tersebut telah dibuktikan secara <i>in vitro</i> maupun <i>in vivo</i> dengan membantu peningkatan kebutuhan oksigen dalam sel hati, percepatan regenerasi sel, dan penyembuhan luka.</p> <p>Neomisin sulfat adalah antibiotik topikal yang berpotensi melawan banyak strain bakteri gram negatif dan gram positif. Neomisin tidak dapat dihancurkan oleh eksudat ataupun produk pertumbuhan bakteri.</p> <p>Kombinasi ekstrak plasenta dan neomisin sulfat dapat mempercepat proses penyembuhan luka, ulkus, dan infeksi kulit lainnya.</p>
Kelas MIMS	Antibiotik topikal
Klasifikasi ATC	D06AX04 - neomycin; Termasuk dalam kelas antibiotik topikal lain yang digunakan untuk penatalaksanaan penyakit kulit.
<i>Poison Classification</i>	POM (<i>Prescription Only Medicine</i>)
<i>Presentation/packing</i>	Jeli 15 g.

Ekstrak plasenta telah lama digunakan di berbagai negara untuk kepentingan kosmetik dan penyembuhan luka (Park, 2010). Penggunaan ekstrak plasenta dalam penyembuhan luka normal ataupun luka yang terinfeksi telah terbukti secara klinis keefektifannya (Chakraborty & Bhattacharyya, 2012). Plasenta kaya akan molekul bioaktif seperti enzim, asam nukleat, vitamin, asam amino, steroid, asam lemak, dan mineral (Park, 2010; Cho, *et al.*, 2008). Oleh karena itu ekstrak plasenta memiliki efek antiinflamasi, antianafilaksis, antioksidan, antimelanogenik, pelembab, dan kaya akan materi pembentuk kolagen (Cho, *et al.*, 2008).

Neomisin sulfat merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang digunakan secara topikal pada kulit dan membran mukosa untuk dekontaminasi bakteri (Pádua, *et al.*, 2005). Sediaan topikal neomisin sulfat (dalam kombinasi dengan anti infeksi lainnya) dapat digunakan untuk mencegah atau mengobati infeksi kulit superfisial yang disebabkan oleh organisme rentan. Selain itu, neomisin sulfat juga dapat digunakan untuk mencegah infeksi pada luka kulit ringan seperti luka sayat, luka gores, dan luka bakar (AHFS DI Essential, 2006).

2.4 Sel Punca

Istilah sel punca diambil dari kata *stem cell* dan mulai populer di dunia kedokteran sekitar pertengahan tahun 2008 (Djauhari, 2010). Istilah *stem cells* pertama kali diusulkan pada tahun 1908 oleh histolog Russia, Alexander Maximov yang mempostulatkan adanya sel induk yang membentuk sel-sel darah. Teori tersebut berhasil terbukti pada tahun 1978 dengan ditemukan sel-

sel punca di sumsum tulang belakang manusia yang mampu membentuk seluruh jenis sel darah, jenis *stem cells* tersebut dikenal sebagai *hematopoietic stem cells* (Djauhari, 2010).

Stem cells berasal dari kata *stem* yang berarti batang dan *cells* yang berarti sel, merupakan awal mula dari pembentukan berbagai sel penyusun keseluruhan tubuh manusia. Komisi Bioetika Nasional dan Pusat Bahasa telah menyetujui *stem cells* dalam bahasa Indonesia dapat diartikan menjadi sel punca, yaitu sel yang menjadi awal mula (Djauhari, 2010).

Sel punca merupakan sel yang belum berdiferensiasi dan memiliki potensi untuk berdiferensiasi menjadi berbagai sel lain, serta mampu membelah untuk memperbaharui dirinya sendiri dalam jangka waktu lama (Yuliana & Suryani, 2012). Proses diferensiasi dipicu oleh sinyal yang berasal dari dalam dan luar sel. Gen pada DNA yang membawa kode untuk struktur dan fungsi sel merupakan sinyal dari dalam sel yang mempengaruhi proses diferensiasi, sedangkan zat kimia yang disekresi oleh sel lain, kontak fisiki dengan sel disebelahnya, dan molekul tertentu dalam lingkungan mikro merupakan sinyal dari luar sel yang mempengaruhi proses diferensiasi. Hal tersebut menyebabkan DNA mengalami perubahan ekspresi dan berujung pada diferensiasi menjadi sel tertentu yang diturunkan melalui pembelahan sel (Yuliana & Suryani, 2012).

2.4.1 Klasifikasi Sel Punca

Sel punca dapat diklasifikasikan berdasarkan beberapa terminologi. sebagai berikut (Imantika, 2014; Djauhari, 2010):

2.4.1.1 Berdasarkan Karakteristik

Berdasarkan karakteristiknya, sel punca diklasifikasikan sebagai berikut (Imantika, 2014; Djauhari, 2010):

a. Sel punca totipoten

Sel punca totipoten mampu untuk berdiferensiasi menjadi seluruh sel dan jaringan yang menyusun embrio dan mendukung perkembangan fetus seperti zigot atau ovum yang dibuahi (Imantika, 2014; Djauhari, 2010).

b. Sel punca pluripoten

Sel punca pluripoten berpotensi untuk berkembang menjadi sel yang berasal dari ketiga lapisan germinal, contohnya sel punca embrional (ektoderm, endoderm, dan mesoderm) (Imantika, 2014; Djauhari, 2010).

c. Sel punca multipoten

Sel punca multipoten mampu menghasilkan sejumlah sel spesifik yang berdiferensiasi sesuai dengan tempatnya, contohnya somatik sel dan *hematopoietic cell* (Imantika, 2014; Djauhari, 2010).

d. Sel punca unipoten

Sel punca unipoten mampu berdiferensiasi menjadi satu jenis sel, contohnya sel punca epidermal (Imantika, 2014).

e. Sel punca oligopoten

Sel punca oligopoten mampu berdiferensiasi menjadi beberapa jenis sel, contohnya jaringan myeloid atau limfoid

yang dapat menghasilkan lima jenis sel darah yaitu monosit, makrofag, eosinofil, neutrofil, dan eritrosit (Djauhari, 2010).

2.4.1.2 Berdasarkan Asal

Berdasarkan asalnya, sel punca diklasifikasikan ke dalam empat kelompok sebagai berikut (Yuliana & Suryani, 2012):

a. Sel punca embrionik

Sel punca embrionik merupakan sel yang diambil dari *inner cell mass*, yaitu suatu kumpulan sel yang terletak di satu sisi *blastocyst* berumur 5 hari dan terdiri dari 100 sel. Sel diisolasi dari *inner cell mass* dan dikultur secara *in vitro* (Djauhari, 2010). Sel punca ini memiliki sifat dapat berkembang biak secara terus menerus dalam media kultur optimal dan dalam keadaan tertentu dapat diarahkan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai sel yang terdiferensiasi seperti sel jantung, sel kulit, neuron, hepatosit, dan sebagainya (Setiawan, 2006; Yuliana & Suryani, 2012).

b. Sel punca fetal

Sel punca fetal adalah sel primitif yang berasal dari berbagai organ dan jaringan fetus, misalnya otak yang diambil untuk menghasilkan sel punca neural, sumsum tulang untuk menghasilkan sel punca hematopoetik, dan jaringan bakal pancreas untuk menghasilkan progenitor sel β pulau Langerhans (Yuliana & Suryani, 2012; Djauhari, 2010).

c. Sel punca ekstraembrional

Sel punca ekstraembrional dapat diambil dari plasenta, tali pusat (jaringan gelatinosa dalam tali pusat yang disebut *Wharton jelly*), dan darah tali pusat segera setelah bayi lahir. Sel punca yang berasal dari darah tali pusat mengandung sel punca hematopoetik yang memiliki kemampuan multipoten dan proliferasi yang lebih baik dari sel punca dewasa yang berasal dari sumsum tulang. Selain itu, sel punca yang berasal dari darah tali pusat memiliki imunogenisitas yang rendah sehingga tidak membutuhkan 100% ketepatan HLA (*human leukocytes antigen*) untuk transplantasinya. Isolasi sel punca ekstraembrional juga tidak membutuhkan prosedur yang invasif karena jaringan ekstraembrional merupakan jaringan buangan (Yuliana & Suryani, 2012).

d. Sel punca dewasa

Sel punca dewasa merupakan sel yang terdapat di semua organ tubuh, terutama di dalam sumsum tulang dan berfungsi melakukan regenerasi untuk mengatasi kerusakan yang terjadi dalam kehidupan (Setiawan, 2006). Sel punca dewasa memiliki sifat multipoten yang dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel. Sel punca dewasa disebut juga sel punca somatik yang mengacu pada berbagai sel tubuh yang bukan sel germinal. Sel ini berperan dalam memelihara dan memperbaiki jaringan tempat sel punca tersebut ditemukan

(Yuliana & Suryani, 2012). Sel punca dewasa dapat diambil dari sumsum tulang, darah perifer atau tali pusat, pembuluh darah, kulit, pulpa gigi, jantung, saluran cerna, hati, epitel, ovarium, testis, jaringan lemak, dan masih akan bertambah lagi seiring dengan penelitian mengenai sel punca (Yuliana & Suryani, 2012; Setiawan, 2006).

2.5 Human Umbilical Cord Stem Cells

Human umbilical cord atau dalam bahasa Indonesia adalah tali pusat manusia, mengandung dua arteri dan satu vena yang dikelilingi oleh jaringan ikat mukoid yang disebut *Wharton's jelly* (Wang, *et al.*, 2004). *Wharton's jelly* adalah jaringan seperti agar-agar dalam tali pusat yang berisi *myofibroblast-like stromal cells* yang dapat menyintesis kolagen, matriks ekstraselular, dan berperan dalam penyembuhan luka (Kim, *et al.*, 2013). Sel khusus dalam *Wharton jelly* yang diusulkan memiliki fenotip sel punca adalah sel-sel stromal mesenkimal atau MSC (*Mesenchymal Stem Cells*) (Kim *et al.* 2013).

Sel punca mesenkimal memiliki kemampuan untuk pembaruan diri dan transformasi dan sangat efektif untuk memperbaiki luka kulit (Nan, *et al.*, 2015). Terapi potensial dari sel punca mesenkimal dapat langsung di eksekusi oleh sel-sel pengganti dari jaringan yang terluka atau oleh efek parakrin dari lingkungan sekitar yang secara tidak langsung mendukung revaskularisasi, melindungi jaringan dari apoptosis yang disebabkan oleh stress, dan tepat memodulasi respon inflamasi (Kalaszczynska & Ferdyn, 2015). Sel punca

mesenkimal yang di dapat dari *Wharton Jelly* pada tali pusat telah terbukti memiliki proliferasi lebih cepat dan kemampuan ekspansi yang lebih besar dibandingkan sel induk mesenkimal dewasa (Antoninus, *et al.*, 2012).

2.6 Gambaran Umum Hewan Coba

Hewan percobaan merupakan hewan yang sengaja dipelihara untuk dipakai sebagai model guna mempelajari dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan (Widiartini, *et al.*, 2013). Tikus Norway (*Rattus norvegicus*) merupakan tikus yang digunakan untuk percobaan laboratorium untuk mempelajari pengaruh obat-obatan, toksisitas, metabolisme, embriologi, maupun tingkah laku karena tikus merupakan hewan mamalia, sehingga dampak terhadap suatu perlakuan tidak jauh berbeda dengan mamalia lainnya (Koolhaas, 2010; CCAC, 1984).

Sebagian besar tikus Norway (*Rattus norvegicus*) yang digunakan di laboratorium merupakan galur albino (Koolhaas, 2010). Terdapat tiga macam galur tikus putih yang dikenal untuk dijadikan hewan coba, yaitu galur *Sprague dawley*, Long Evans, dan Wistar (Akbar, 2010).

Sprague dawley merupakan strain yang diciptakan oleh R.W Dawley pada tahun 1925, merupakan persilangan dari tikus Wistar betina dengan tikus jantan yang tidak diketahui klasifikasinya (Koolhaas, 2010). *Sprague dawley* memiliki tampilan ekor yang lebih panjang dari badannya. *Sprague dawley* dapat digunakan untuk aplikasi penelitian dalam aspek eksperimen pembedahan, studi umum, metabolisme dan nutrisi, neurologi, onkologi, farmakologi, fisiologi dan penuaan, teratologi, serta toksikologi (Janvier, 2013).

Perbedaannya dengan tikus galur Wistar adalah galur *Sprague dawley* lebih jinak dan mudah ditangani (Janvier, 2013). Berikut adalah taksonominya (Akbar, 2010):

Kingdom : Animalia

Filum : Cordata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Familia : Muridae

Genus : Rattus

Spesies : *Rattus norvegicus*

Siklus hidup tikus laboratorium bermacam-macam dipengaruhi oleh galur, diet, jenis kelamin, kondisi lingkungan dan variable lain. Maksimum siklus hidup dari tikus laboratorium adalah 2 sampai 3.5 tahun, (Koolhaas, 2010). *Sprague dawley* memiliki siklus hidup yang lebih singkat yang hanya berkisar sampai usia 2 tahun (CCAC, 1984). Tikus laboratorium mencapai kematangan seksual pada usia 2 sampai 3 bulan dengan berat badan rata-rata 200-250 gram dan bisa mencapai 500 gram (Koolhaas, 2010; CCAC, 1984).

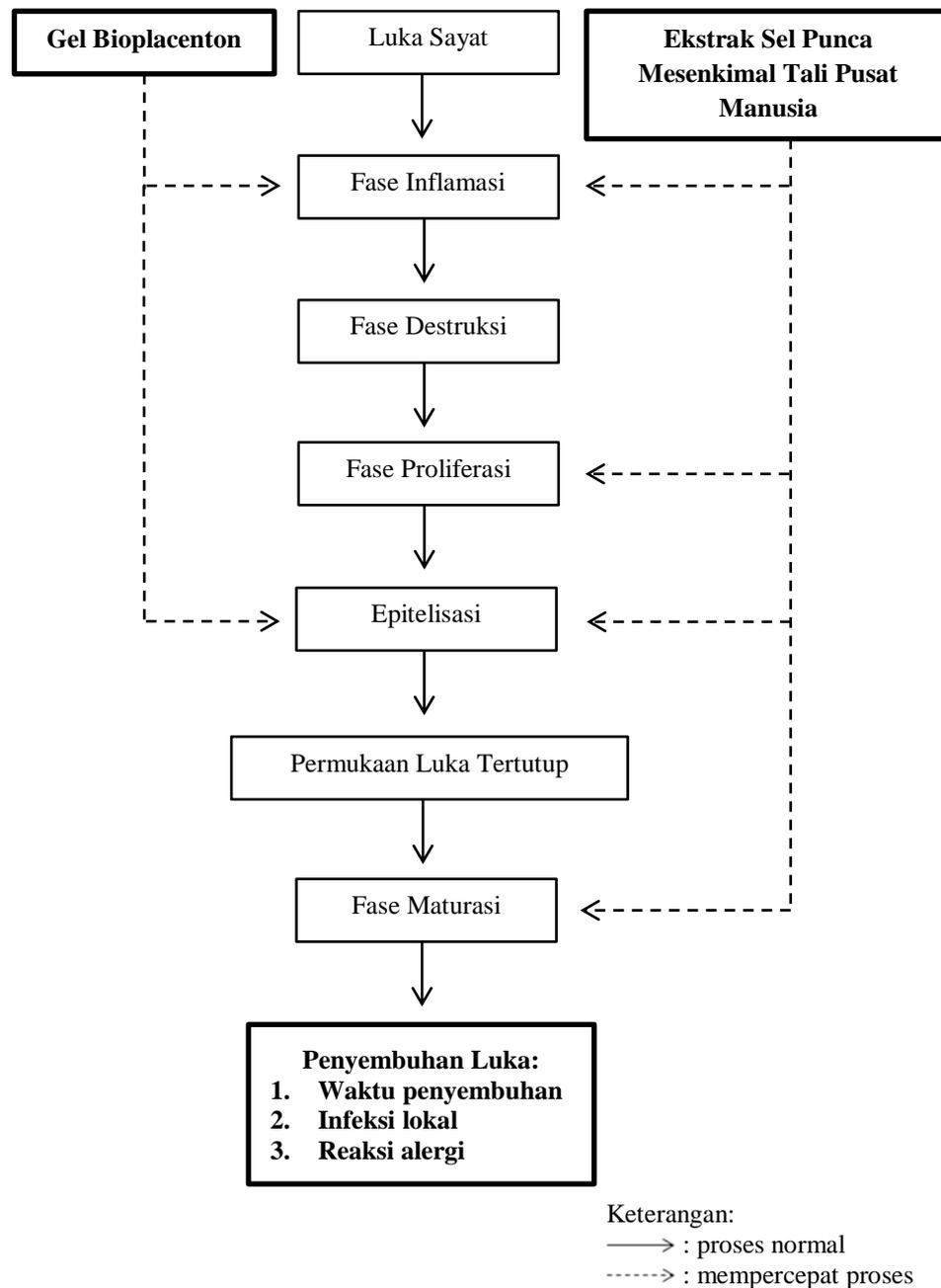
Transportasi, terutama melalui udara sangat mempengaruhi tikus. Transportasi tikus dengan jarak yang jauh sebaiknya dihindari karena memberi dampak stress yang berepanjangan sehingga berpengaruh pada fisiologi dan perilaku tikus (Koolhaas, 2010). Tikus dapat mengalami dehidrasi dan kehilangan berat badannya Oleh karena itu diperlukan waktu ekuilibrium (periode pemulihan) setelah tikus diterima dari peternak komersial

selama minimal 1 minggu, sebanding dengan lama waktu yang dihabiskan untuk transit (Koolhaas, 2010; CCAC, 1984).

Fasilitas dan pemeliharaan tikus juga perlu diperhatikan untuk menghindari kerusakan fisiologis yang dapat mempengaruhi hasil penelitian. Kebutuhan pangan tikus laboratorium rata-rata adalah 12–30 gram perhari dan membutuhkan cairan sekitar 140 ml/kgBB perhari (CCAC, 1984). Teperatur yang efektif untuk lingkungan hidup tikus laboratorium adalah 20-25 °C dengan tingkat kebisingan kurang dari 85dB (CCAC, 1984).

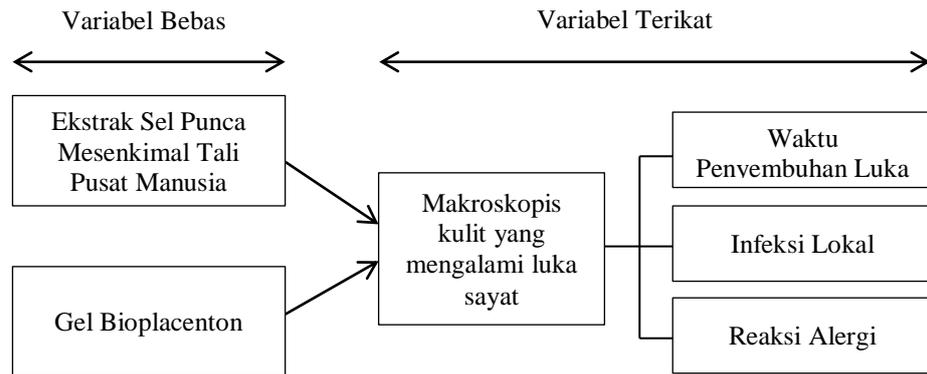
2.7 Kerangka Penelitian

2.7.1 Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori Pengaruh Pemberian Ekstrak Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia dan Gel Bioplacenton Pada Proses Penyembuhan Luka (Kalaszczynska & Ferdyn, 2015; MIMS 2016; Morison, 2004; Nan, *et al.*, 2015; Wombeogo & Kuubire, 2014).

2.7.2 Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep Pemberian Ekstrak Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia dan Gel Bioplacenton Terhadap Makroskopis Kulit yang Mengalami Luka Sayat.

2.8 Hipotesis

Berdasarkan tinjauan pustaka di atas, hipotesis alternatif pada penelitian ini adalah:

- a. Terdapat perbedaan waktu penyembuhan luka sayat antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan gel bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.
- b. Tidak terdapat infeksi lokal pada penyembuhan luka sayat dengan pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia maupun gel bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.
- c. Tidak terdapat reaksi alergi pada penyembuhan luka sayat dengan pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia maupun gel bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Berdasarkan metode penelitiannya, penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik untuk mengetahui perbedaan penyembuhan luka sayat secara makroskopis antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan gel bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang meliputi waktu penyembuhan luka, infeksi lokal, dan reaksi alergi.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November-Desember 2016. Pembuatan sediaan topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler selama 1 hari dan pengamatan secara makroskopis dilakukan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung selama 14 hari.

3.3 Subjek Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi merupakan sekumpulan individu, objek atau fenomena yang secara potensial dapat diukur sebagai bagian dari penelitian (Swarjana, 2012). Populasi dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*. Sampel yang digunakan adalah tikus yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

3.3.1.1 Kriteria Inklusi

Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang memiliki berat badan normal (250-300 gram), berusia 2-3 bulan sebelum dilakukan adaptasi, pada pengamatan visual tampak sehat dan bergerak aktif, serta tidak terdapat kelainan anatomis.

3.3.1.2 Kriteria Eksklusi

Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang memiliki kelainan pada kulit di bagian inguinal, terdapat penurunan berat badan secara drastis lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium, dan mati selama masa perlakuan.

3.3.2 Sampel Penelitian

Sampel merupakan sekumpulan individu atau objek yang dapat diukur dan dapat mewakili populasi (Swarjana, 2012). Pada penelitian ini, sampel dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan, dimana satu

kelompok adalah *control groups* dan dua kelompok lainnya adalah *experimental groups*.

3.3.2.1 Besar Sampel

Besar sampel penelitian dihitung dengan menggunakan rumus Federer untuk data homogen, yaitu $t(n-1) \geq 15$, dimana t = banyaknya kelompok perlakuan dan n = jumlah sampel tiap kelompok (Sastroasmoro, 2014).

Penelitian ini menggunakan 3 kelompok perlakuan yang terdiri dari: (1) kelompok kontrol negatif (K) yang dibersihkan dengan akuades 1x sehari, (2) kelompok perlakuan 1 (P1) yang diberi topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia 1x sehari, dan (3) kelompok perlakuan 2 (P2) yang diberikan gel Bioplacenton 1x sehari, sehingga jumlah sampel yang dibutuhkan adalah:

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

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

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 15+3 = 18$$

$$n \geq 18/3 = 6$$

Berdasarkan rumus tersebut, jumlah minimal sampel yang dibutuhkan untuk masing-masing kelompok perlakuan adalah 6 ekor tikus dan jumlah minimal sampel untuk 3 kelompok perlakuan adalah 18 ekor tikus. Jumlah minimal sampel ditambahkan 10% untuk mengantisipasi *drop out*. Pembagian

sampel ke dalam tiga kelompok perlakuan dilakukan dengan pemilihan secara acak.

3.3.2.2 Teknik Sampling

Sampling merupakan sebuah strategi yang digunakan untuk memilih elemen dari populasi untuk diteliti (Swarjana 2012). Pada penelitian ini pengambilan sampel dilakukan dengan cara *simple random sampling*.

3.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *randomize only control group design* dengan mengamati perbedaan penyembuhan luka sayat secara makroskopis antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan gel bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang meliputi waktu penyembuhan luka, infeksi lokal, dan reaksi alergi.

3.5 Identifikasi Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah sediaan topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dan gel Bioplacenton.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah makroskopis luka sayat tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang meliputi waktu penyembuhan luka, infeksi lokal, dan reaksi alergi.

3.6 Definisi Operasional Variabel Penelitian

Tabel 2. Definisi operasional variabel penelitian

No	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Variabel Bebas						
1	Ekstrak Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia	<i>Wharton's jelly Mesenchymal Stem Cells (WJMSCs)</i> yang di isolasi dari tali pusat manusia yang dibuat di Laboratorium Biologi Molekuler FK Unila dioleskan topikal 1 kali sehari.	Lembar observasi	Hasil pengamatan dicatat dalam lembar observasi		
2	Gel Bioplacenton	Gel Bioplacenton yang mengandung ekstrak plasenta 10% dan neomisin sulfat 0.5%, di produksi oleh Kalbe Farma, masih tersegel baik. Pemakaian dengan cara dioleskan 1 kali sehari	Lembar observasi	Hasil pengamatan dicatat dalam lembar observasi		
3	Akuades	Air hasil penyulingan. Diberikan pada kelompok kontrol negatif sebanyak 1 kali sehari.	Lembar Observasi	Hasil pengamatan dicatat dalam lembar observasi		

Tabel 2. Lanjutan**Variabel Terikat**

Makroskopis Luka Sayat, meliputi:						
3	Waktu Penyembuhan Luka	Waktu yang dibutuhkan untuk melakukan perbaikan jaringan; ditandai dengan permukaan yang bersih, sedikit granulasi, dan tidak ada jaringan yang hilang.	Skor Nagaoka	Hasil pengamatan dinilai dengan skor Nagaoka	Lama waktu penyembuhan luka (hari);	Numerik
					1. ≥ 14 hari (Lambat) 2. 7-14 hari (Sedang) 3. < 7 hari (Cepat)	
4	Infeksi Lokal	Kerusakan spesifik dan terbatas dari jaringan luka akibat invasi mikroba; ditandai dengan adanya tanda-tanda inflamasi kalor, rubor, tumor, dolor, <i>function laesi</i>	Skor Nagaoka	Hasil pengamatan dinilai dengan skor Nagaoka	1. infeksi lokal disertai pus 2. infeksi lokal tanpa pus 3. tidak ada infeksi lokal	Ordinal
5	Reaksi Alergi	Reaksi lokal akibat hipersensitivitas yang ditandai dengan adanya bintik merah disekitar luka	Skor Nagaoka	Hasil pengamatan dinilai dengan skor Nagaoka	1. ada reaksi alergi 3. tidak ada reaksi alergi	Nominal

3.7 Alat dan Bahan**3.7.1 Alat Penelitian**

- a. Kandang hewan coba
- b. Timbangan
- c. Pisau cukur
- d. Pisau skalpel steril
- e. Gelas beker
- f. Mikropipet beserta tipnya

- g. Inkubator
- h. *Quick-DNA Universal Kit (Zymo-Spin IIC-XL Column)*
- i. Tabung mikrosentrifugasi
- j. Kassa steril
- k. Sduit 1 cc dan jarum
- l. Plester

3.7.2 Bahan Penelitian

- a. Pakan dan minum tikus
- b. Alkohol 70%
- c. NaCl fisiologis
- d. Tali pusat manusia
- e. Larutan *buffer* garam fosfat
- f. *Quick-DNA Universal Kit (Solid Tissue Buffer, Proteinase K, Genomic Binding Buffer, DNA-Pre Wash Buffer, g-DNA Wash Buffer, dan DNA Elution Buffer)*
- g. *Lidocain* 0.2 %
- h. Akuades
- i. Gel Bioplacenton

3.8 Cara Kerja

3.8.1 Tahap Persiapan

3.8.1.1 Aklimatisasi Hewan Uji

Aklimatisasi adalah penyesuaian (diri) dengan iklim, lingkungan, kondisi, atau suasana baru. Sebelum diberi

perlakuan, terlebih dahulu dilakukan pengadaptasian semua tikus di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung selama minimal satu minggu. Tikus diadaptasikan dengan tempat tinggal baru, lingkungan baru, serta makanan dan minumannya. Pemberian makan tikus dilakukan dengan standar sesuai dengan kebutuhannya (*ad libitum*).

3.8.1.2 Pembuatan Ekstrak Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat

Penelitian dilakukan setelah mendapat persetujuan *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Tali pusat didapat dari donor sukarela yang telah menandatangani lembar *informed consent*. Donor sukarela merupakan ibu yang tidak memiliki riwayat hepatitis B, hepatitis C, HIV, infeksi *Cytomegalo virus*, infeksi *Treponema pallidum*, serta riwayat infeksi lain yang ditularkan melalui darah, sawar plasenta, dan genital (Chen, *et al.*, 2015).

Setelah bayi lahir, tali pusat dipotong sekitar 5-7 cm menggunakan pisau steril dan disimpan dalam wadah berisi larutan salin normal 0.9% kemudian disimpan pada suhu 4°C sampai proses pengolahan dilakukan.

Tali pusat ditangani secara aseptik dan di proses dalam *biological safety cabinet*. Permukaan tali pusat dibilas dengan larutan *buffer* garam fosfat untuk membersihkannya dari darah yang menempel di permukaan (Puranik, *et al.*, 2012).

Ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dibuat menggunakan Quick-DNA Universal Kit, produksi Zymo Research. Sampel disiapkan dengan memotong jaringan tali pusat kedalam ukuran sangat kecil. 25 mg sampel yang telah di timbang menggunakan timbangan digital dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifugasi kemudian di tambah dengan 95 μL air, 95 μL *Solid Tissue Buffer*, dan 10 μL Proteinase K lalu putar menggunakan *vortex* selama 10-15 detik. Setelah itu, inkubasi tabung tersebut pada suhu 55 $^{\circ}\text{C}$ selama 1-3 jam.

Setelah inkubasi selesai, mikrosentrifugasi tabung dengan kecepatan 12.000 xg selama 1 menit lalu ambil supernatant dan masukkan ke dalam tabung mikrosentrifugasi baru. Supernatan yang telah dipisahkan kemudian ditambahkan dengan *Genomic Binding Buffer* sebanyak 2 kali volume supernatan tersebut (contoh: tambahkan 400 μL *Genomic Binding Buffer* untuk 200 μL supernatan), *vortex* selama 10-15 detik. Pindahkan campuran tersebut ke tabung Zymo-Spin IIC-XL dalam tabung pengumpul lalu sentrifugasi dengan kecepatan 12.000 xg selama 1 menit, kemudian buang supernatan hasil sentrifugasi.

Setelah itu, tambahkan 400 μL *DNA Pre-Wash Buffer* lalu sentrifugasi dengan kecepatan 12.000 xg, kosongkan tabung pengumpul. Kemudian tambahkan 700 μL *g-DNA Wash Buffer* lalu sentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.000 xg selama 1 menit, lalu kosongkan tabung pengumpul. Setelah itu, tambahkan

kembali 200 μL *g-DNA Wash Buffer* lalu sentrifugasi dengan kecepatan dan waktu yang sama dengan proses sebelumnya, lalu kosongkan tabung pengumpul. Terakhir, pindahkan tabung Zymo-Spin yang telah ditambahkan 50 μL *DNA Elution* ke dalam tabung pengumpul baru, lalu inkubasi pada suhu ruang selama 5 menit, dan kemudian di sentrifugasi dengan kecepatan 12.000 xg selama 1 menit. Terbentuklah 50 μL ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia. Simpan pada suhu -20°C sampai ekstrak akan digunakan.

3.8.2 Tahap Pengujian

3.8.2.1 Pembuatan Luka Sayat

Sebelum pembuatan luka dilakukan, bulu disekitar area perlukaan di cukur sesuai dengan luas area luka sayat yang diinginkan. Setelah di cukur, lakukan prosedur anestesi untuk tindakan bedah superfisial secara *intramuscular* menggunakan *lidocain* 0.2-0.4 ml/kgBB agar tikus tidak merasakan sakit dan menghindari gerak berlebihan yang akan ditimbulkan oleh tikus. Luka sayat dibuat di punggung tikus menggunakan pisau skalpel dengan panjang luka 2 cm dan kedalaman hingga lapisan dermis yang ditandai dengan keluarnya darah.

3.8.2.2 Penanganan Luka Sayat

Setelah luka sayat di buat, penanganan diberikan berdasarkan protokol perawatan luka dan dilanjutkan sesuai dengan kelompok perlakuan yang sudah ditentukan. Luka sayat pada kelompok

kontrol negatif (K) hanya diolesi dengan akuades 0.02 mL menggunakan spuit 1 cc. Pada kelompok perlakuan 1 (P1), luka diolesi dengan ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia (WJMSCs) 0.02 mL sampai menutupi seluruh permukaan luka, begitupun dengan kelompok perlakuan 2 (P2) diolesi dengan gel Bioplacenton 0.02 mL sampai menutupi seluruh permukaan luka. Perawatan luka sayat tersebut dilakukan sebanyak satu kali sehari selama 14 hari sesuai dengan lama proses penyembuhan luka normal mencapai fase proliferasi.

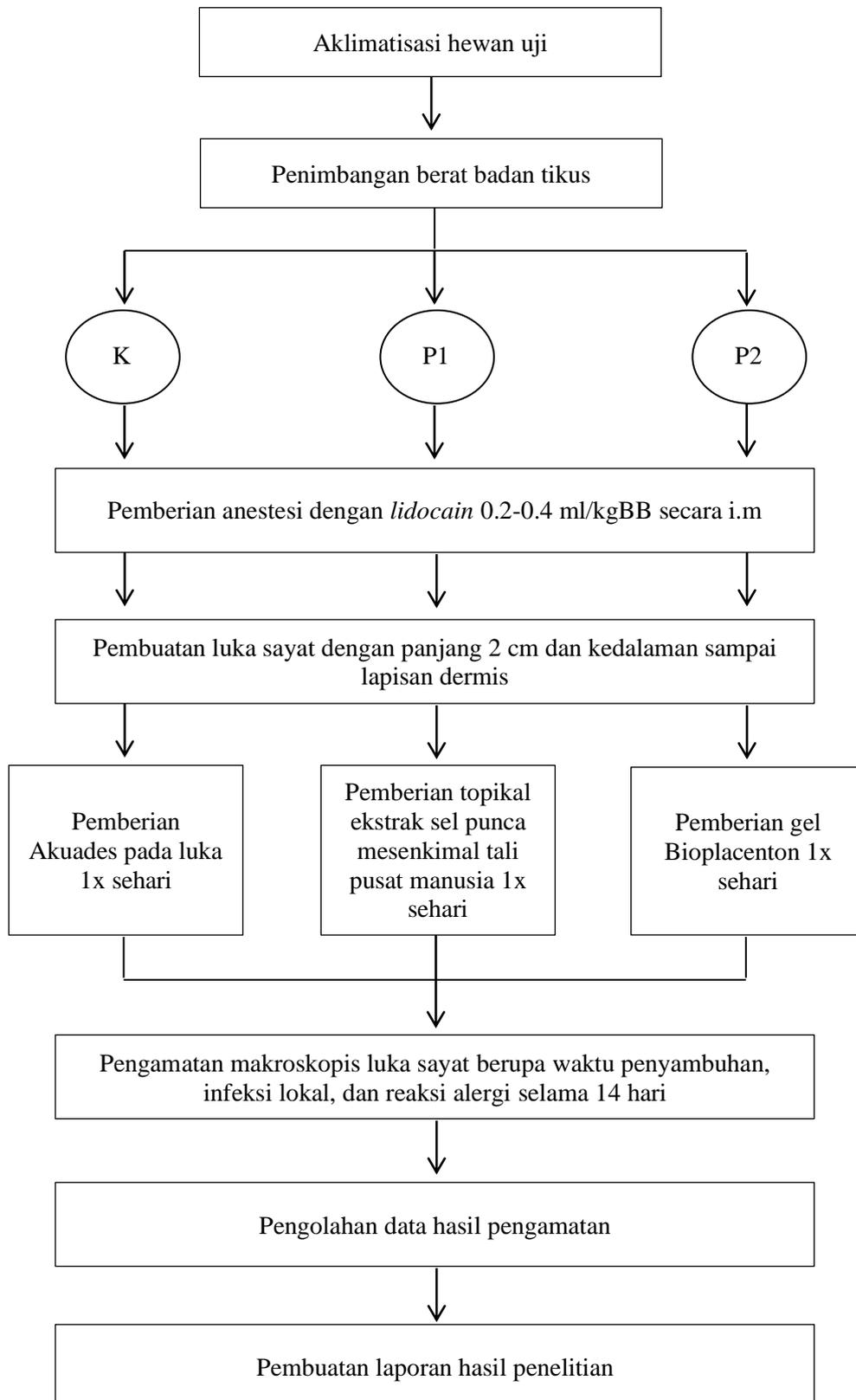
3.8.2.3 Penilaian Makroskopis

Penilaian makroskopis luka sayat pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* setelah diberi perlakuan dilakukan setiap hari selama 14 hari. Penilaian makroskopis luka sayat tikus menggunakan skor Nagaoka yang mencakup aspek waktu penyembuhan luka, infeksi lokal, dan reaksi alergi yang dapat dilihat dalam *tabel 3*.

Tabel 3. Skor penilaian makroskopis (Nagaoka, *et al.*, 2000).

Parameter dan Deskripsi	Skor
Waktu Penyembuhan Luka	
• Di bawah 7 hari	3
• Antara 7-13 hari	2
• 14 hari keatas	1
Infeksi Lokal	
• Tidak ada infeksi lokal	3
• Infeksi lokal tanpa disertai pus	2
• Infeksi lokal disertai dengan pus	1
Reaksi Alergi	
• Tidak ada reaksi alergi	3
• Reaksi alergi berupa warna bintik merah sekitar luka	1

3.9 Alur Penelitian



Gambar 5. Alur penelitian

3.10 Pengolahan dan Analisis Data

Beberapa langkah yang tepat diperlukan dalam menentukan uji hipotesis. Langkah-langkah dalam menentukan uji hipotesis tersebut diantaranya adalah (Dahlan, 2009):

- a. Menentukan variabel yang dihubungkan.
- b. Menentukan jenis hipotesis.
- c. Menentukan berpasangan/tidak berpasangan.
- d. Menentukan jumlah kelompok atau jenis tabel.

Penelitian ini merupakan penelitian yang variabel bebasnya merupakan data dengan skala kategorik dan variabel terikatnya berupa data dengan skala pengukuran numerik lebih dari dua kelompok tidak berpasangan. Jenis hipotesis yang digunakan untuk mencari hubungan antarvariabelnya adalah hipotesis komparatif numerik tidak berpasangan.

Hasil pengamatan tentang perbedaan penyembuhan luka sayat secara makroskopis antara pemberian ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan gel bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* dari segi waktu penyembuhan luka di analisis menggunakan analisis univariat untuk proporsi dan analisis bivariat untuk uji hipotesis komparatif numerik lebih dari dua kelompok tidak berpasangan untuk mengetahui hubungan antarvariabel kategorik dan numerik.

Data dianalisis menggunakan *software* statistik. Jenis statistik yang digunakan adalah uji *One Way ANOVA* dengan beberapa catatan sebagai berikut (Dahlan, 2009):

- a. Bila sebaran normal dan varian sama, gunakan uji *One Way ANOVA* dengan *post hoc* Bonferroni atau LSD.
- b. Bila sebaran normal dan varian berbeda, gunakan uji *One Way ANOVA* dengan *post hoc* Tamhane's.
- c. Bila sebaran tidak normal, lakukan transformasi. Analisis yang dilakukan bergantung pada sebaran dan varian hasil transformasi.
- d. Bila sebaran tidak normal, gunakan uji Kruskal-Wallis dengan *post hoc* Mann-Whitney.

Sedangkan hasil pengamatan tentang perbedaan penyembuhan luka sayat secara makroskopis antara pemberian ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan gel bioplacenta pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* dari segi infeksi lokal dan reaksi alergi dianalisis menggunakan statistik deskriptif kategorik.

3.11 Kaji Etik

Penelitian ini telah diajukan ke Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan menerapkan prinsip 3R yaitu *replacement*, *reduction*, dan *refinement* dengan persetujuan etik nomor 126/UN26.8/DL/2017.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat ditarik beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Urutan rerata waktu penyembuhan luka sayat dari yang tercepat adalah ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia, gel Bioplacenton, dan akuades.
2. Terdapat perbedaan waktu penyembuhan luka sayat yang bermakna antara pemberian ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan gel Bioplacenton dengan $p= 0.028$ pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.
3. Tidak terdapat infeksi lokal pada penyembuhan luka sayat antara pemberian ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan gel Bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.
4. Tidak terdapat reaksi alergi pada penyembuhan luka sayat antara pemberian ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan gel

Bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

5.2 Saran

Adapun saran yang dapat diberikan peneliti dari hasil penelitian ini antara lain adalah:

5.2.1 Bagi Peneliti Lain

Diharapkan hasil penelitian ini dapat menjadi dasar bagi penelitian selanjutnya mengenai pengaruh pemberian ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap penyembuhan luka lainnya dengan melihat tidak hanya makroskopis, melainkan juga dari sisi mikroskopis luka. Selain itu, peneliti lain diharapkan memperhatikan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka itu sendiri agar hasil penelitian yang diperoleh terhindar dari bias.

5.2.2 Bagi Instansi Terkait

Bagi Universitas Lampung, diharapkan dapat meningkatkan ketertarikan dan mengembangkan prasarana untuk penelitian mengenai sel punca sebagai terapi regeneratif.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- AHFS DI Essential. 2006. Neomycin Sulfate Topical. Drugs.com. <http://www.drugs.com/monograph/neomycin-sulfate-topical.html#> [Di akses pada 21 Mei 2016].
- Akbar, B., 2010. Tumbuhan Dengan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas ed 1. Jakarta: Adabia Press.
- Antoninus, A.A., Agustina, D., Wijaya, L., Hariyanto, V., Yanti, Merlina, M. *et al.*, 2012. Wharton ' s Jelly – Derived Mesenchymal Stem Cells : Isolation and Characterization., 39(8), hal.588–591.
- Arno, A.I., Nik, S.A., Blit, P.H., Shehab, M.A., Belo C., Herer, E., *et al.*, 2014. Human Wharton's Jelly Mesenchymal Stem Cells Promote Skin Wound Healing Through Paracrine Signaling. *Stem Cell Research & Therapy*, 5(28), hal 1-13.
- Baratawidjaja, K.G., Rengganis, I., 2014. *Imunologi Dasar Edisi Ke-11*. Jakarta: Badan Penerbit FKUI., hal 319-348
- CCAC. 1984. *Laboratory Rats. Canadian Council on Animal Care: Guide to the care and use of experimental animals*, volume 2.
- Chakraborty, P.D. & Bhattacharyya, D., 2012. Aqueous Extract of Human Placenta. *Recent Advances in Research on the Human Placenta*, (4), hal.77–92.

- Chen, G., Yue, A., Ruan, Z., Yin, Y., Wang, R., Ren, Y. *et al.*, 2015. Comparison of biological characteristics of mesenchymal stem cells derived from maternal-origin placenta and Wharton's jelly. *Stem Cell Research & Therapy*, 6(1), p.228.
- Cho, H., Ryou, J. & Lee, J., 2008. The effects of placental extract on fibroblast proliferation. *J. Cosmet. Sci.*, 202 (June), hal.195–202.
- Dahlan, M. Sopiudin. 2009. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan Ed. 3*. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Dealey, C. & Cameron, J., 2008. *Wound Management*, West Sussex: Wiley-Blackwell.
- Djauhari, T., 2010. Sel Punca. *Jurnal Saintika Medika*, 6(13), hal.91–96.
- Guo, S., DiPietro, L.A., 2010. Factors Affecting Wound Healing. *J Dent Res*, 89(3), hal 219-229.
- Hasibuan, L.Y., Soedjana, H. & Bisono., 2010. Luka. In R. Sjamsuhidajat *et al.*, eds. *Buku Ajar Ilmu Bedah Sjamsuhidajat-De Jong*. Jakarta: EGC, pp. 95–120.
- Imantika, E. 2014. Peran Sel Punca (Stem Cells) dalam Mengatasi Masalah Infertilitas Pada Wanita. *Medula*, 2(3), hal.47–55.
- Janvier. 2013. Research models. Fiche Research Models, p.2013. <http://www.janvier-labs.com> [Di akses pada 21 Mei 2016].
- Kalaszczynska, I. & Ferdyn, K., 2015. Wharton ' s Jelly Derived Mesenchymal Stem Cells: Future of Regenerative Medicine? Recent Findings and Clinical Significance. *BioMed Research International*, 2015, hal.1–11.
- Kalbemed. 2013. Bioplacenton. Kalbe Medical Portal. <http://www.kalbemed.com/Products/Drugs/Branded/tabid/245/ID/5699/Bioplacenton.aspx> [Di akses pada 13 Mei 2016].

- Kartika, R.W., 2015. Perawatan Luka Kronis dengan Modern Dressing. *Perawatan Luka Kronis Dengan Modern Dressing*, 42(7), hal.546–550.
- Kim, D.W., Staples, M., Shinozuka, K., Pantcheva, P., Kang, S., Borlongan C.V. *et al.*, 2013. Wharton's Jelly-Derived Mesenchymal Stem Cells: Phenotypic Characterization and Optimizing Their Therapeutic Potential for Clinical Applications. *Int. J. Mol. Sci.*, 14(6), hal.11692–11712.
- Koolhaas, J.M., 2010. The Laboratory Rat. In R. Hubrecht & J. Kirkwood, eds. *The UFAW Handbook on The Care Management of Laboratory and Other Research Animal*. UFAW, hal. 311–326.
- Lahirin, Rita. 2011. Tesis: Serum darah Tali Pusat Manusia Dapat Meningkatkan Proliferasi Fibroblas Pada Tikus (Galur NIH3T3) Lebih Banyak Daripada Serum Fetus Sapi. Denpasar: Universitas Udayana.
- Librianty, N., 2015. *Panduan Mandiri Melacak Penyakit*, Jakarta: Lintas Kata.
- Meliana, A., Wijaya, A., 2014. Application of Umbilical Cord Blood Stem Cells in Regenerative Medicine. *Ina BJ*, 6(3), hal 115-122.
- Mescher, A.L., 2012. *Histologi Dasar Junqueira: Teks & Atlas ed 12*. Eds H. Hartanto. Jakarta: EGC.
- MIMS. 2016. Bioplacenton. MIMS (C) 2016. <http://www.mims.com/myanmar/drug/info/bioplacenton?type=full> [Di akses pada 21 Mei 2016].
- Morison, M.J., 2004. *Manajemen Luka Florinda*, M. Ester, & S. Kurnianingsih, eds. Jakarta: EGC.
- Nagaoka, T., Kaburagi, Y., Hamaguchi, Y., Hasegawa, M., Takehara, K., Steeber, D.A. *et al.*, 2000. Delayed wound healing in the absence of intercellular adhesion molecule-1 or L-selectin expression. *Am. J. Pathol.*, 157(1), hal.237–247.
- Nan, W., Liu, R., Chen, H., Xu, Z., Wang, M., Yuan, Z. *et al.*, 2015. Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Combined With a Collagen-fibrin Double-

- layered Membrane Accelerates Wound Healing. *WOUNDS*, 27(5), hal.134–140.
- Pádua, C.A.M., A., Schnuch, H., Lessmann, J., Geier, A., Pfahlberg, W., Uter *et al.*, 2005. Contact allergy to neomycin sulfate: results of a multifactorial analysis. *Pharmacoepidemol Drug Saf.*, 14(10), hal.725–733.
- Park, S.Y., Phark, S., Lee, M., Lim, J.Y., Sul, D., 2010. Anti-oxidative and anti-inflammatory activities of placental extracts in benzo[a]pyrene-exposed rats. *Placenta*, 31(10), hal.873–879.
- Prayogo, R. & Wijaya, M.T., 2006. Kultur dan Potensi Stem Cells dari Darah Tali Pusat. *Cermin Dunia Kedokteran* (153), hal.26–28.
- Puranik, S.B., Nagesh, A., & Guttedar, R.S., 2012. Isolation of mesenchymal-like cells from Wharton's jelly of umbilical cord. *IJPCBS*, 2(3), hal.218–224.
- Rihatmadja, R., 2015. Anatomi dan Faal Kulit. In S. L. S. Menaldi, K. Bramono, & W. Indriatmi, eds. *Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin*. Jakarta: Badan Penerbit FKUI, hal. 3–7.
- Rodero, M.P. & Khosrotehrani, K., 2010. Skin wound healing modulation by macrophages. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, 3(7), hal.643–653.
- Sastroasmoro, S., 2014. *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis ed 5*. Jakarta: Sagung Seto.
- Setiawan, B., 2006. Aplikasi Terapeutik Sel Stem Embrionik pada Berbagai Penyakit Degeneratif. *Cermin Dunia Kedokteran*, (153), hal.5–8.
- Swarjana, I.K., 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan ed 1*. Yogyakarta: ANDI.
- Thomas, S., 2010. *Surgical Dressing and Wound Management*, South Wales: Metedec Publications.
- Wang, H.S., Hung, S.C., Peng, S.T., Huang, C.C., Wei, H.M., Guo, Y.J. *et al.*, 2004. Mesenchymal stem cells in the Wharton's jelly of the human umbilical

cord. Stem cells (Dayton, Ohio), 22(7), hal.1330–7.

Widiartini, W., Siswati, E., Setiyawati, A., Rohmah, I.M., Prastyo, E., 2013. Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Tersertifikasi Dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboratorium. Prosiding Elektronik (*e-Proceedings*) PIMNAS PKM-K.

Wombeogo, M. & Kuubire, C.B., 2014. Trauma and Emergency Health Care Manual, Bloomington: AuthorHouseTM UK Ltd.

Yuliana, I. & Suryani, D., 2012. Terapi Sel Punca pada Infark Miokard Stem Cell Therapy in Myocardial Infarction. Bioteknologi, 11(2), hal.176–190.