

**PERBEDAAN KECEPATAN PEMYEMBUHAN LUKA BAKAR
DERAJAT II ANTARA PEMBERIAN TOPIKAL EKSTRAK SEL PUNCA
MESENKIMAL *WHARTON'S JELLY* TALI PUSAT MANUSIA DENGAN
GEL BIOPLACENTON PADA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*)
GALUR *Sprague dawley***

(Skripsi)

**Oleh
Luh Dina Yulita**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

**PERBEDAAN KECEPATAN PENYEMBUHAN LUKA BAKAR
DERAJAT II ANTARA PEMBERIAN TOPIKAL EKSTRAK SEL PUNCA
MESENKIMAL *WHARTON'S JELLY* TALI PUSAT MANUSIA DENGAN
GEL BIOPLACENTON PADA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*)
GALUR *Sprague dawley***

Oleh

Luh Dina Yulita

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Lulus Sarjana Kedokteran

Pada

**Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

Judul Skripsi : **PERBEDAAN KECEPATAN PENYEMBUHAN
LUKA BAKAR DERAJAT II ANTARA
PEMBERIAN TOPIKAL EKSTRAK SEL
PUNCA MESENKIMAL *WHARTON'S JELLY*
TALI PUSAT MANUSIA DENGAN GEL
BIOPLACENTON PADA TIKUS PUTIH
JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague
dawley***

Nama Mahasiswa : Luh Dina Yulita

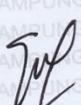
No. Pokok Mahasiswa : 1418011118

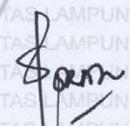
Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran

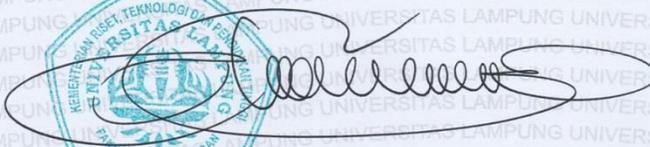


1. Komisi Pembimbing


Dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc
NIP. 197601202003122001


Soraya Rahmanisa, S.Si., M.Sc
NIP. 1985041222010122003

2. Dekan Fakultas Kedokteran



DR. Dr. Muhartono, S.Ked., M. Kes., Sp. PA
NIP. 197012082001121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc

Sekretaris : Soraya Rahmanisa, S.Si., M.Sc

Penguji

Bukan Pembimbing : Dr. Rasmi Zakiah O, S. Ked., M. Farm

2. Dekan Fakultas Kedokteran



DR. Dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA
NIP 197012082001121001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 23 Januari 2018

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

1. Skripsi dengan judul “PERBEDAAN KECEPATAN PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DERAJAT II ANTARA PEMBERIAN TOPIKAL EKSTRAK SEL PUNCA MESENKIMAL *WHARTON'S JELLY* TALI PUSAT MANUSIA DENGAN GEL BIOPLACENTON PADA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley*” adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai 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 ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 23 Januari 2018

Pembuat Pernyataan



Luh Dina Yulita
Luh Dina Yulita

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Kotagajah, 25 Juli 1995, merupakan anak pertama dari dua bersaudara, dari Ayahanda I Nyoman Diarsa dan Ibunda Ni Nyoman Nuriyati.

Pendidikan Taman Kanak-kanak diselesaikan di TK Pertiwi Seputih Raman Tahun 2000, Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SD Negeri 01 Rama Dewa Seputih Raman pada tahun 2006, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMP Negeri 02 Kotagaja pada tahun 2009, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMA Negeri 2 Bandar Lampung pada tahun 2012. Tahun 2014, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah aktif pada organisasi Perhimpunan Mahasiswa Pecinta Alam dan Tanggap Darurat (PMPATD) Pakis Rescue Team sebagai anggota divisi Pengabdian Masyarakat, kepala divisi Satuan Tugas dan Logistik, dan Dewan Penasihat Organisasi (DPO) pada tahun 2014-2017. Penulis terdaftar sebagai anggota dari LUNAR pada tahun 2016.

Penulis pernah aktif pada organisasi tingkat nasional sebagai Staf Penanggulangan Bencana dan DPO Perhimpunan Tim Bantuan Medis Mahasiswa Kedokteran Indonesia (PTBMMKI) pada tahun 2015-2018. Penulis merupakan bagian dari asisten dosen anatomi pada tahun 2016-2017.

Kepada Tuhan Yang Maha Menenangkan Hati

Terimalah segala jerih payahku
menggapai mimpi tuk menolong sesamaku
mengasihi ciptaan Mu
jagalah aku untuk tetap berada, di Jalan baik Mu

Untuk setiap doa yang tak pernah ku dengar
setiap usaha yang tak pernah kau umbar
setiap harapan yang selalu kau simpan
Mama, Papa, Putra, dan Nenek

Kupersembahkan Karya Sederhana Ini Untukmu

SANWACANA

Puji syukur Penulis ucapkan kepada Ida Sang Hyang Widhi Wasa, atas segala pertolongan dan kemudahan yang diberikan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Skripsi ini berjudul “PERBEDAAN KECEPATAN PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DERAJAT II ANTARA PEMBERIAN TOPIKAL EKSTRAK SEL PUNCA MESENKIMAL *WHARTON'S JELLY* TALI PUSAT MANUSIA DENGAN GEL BIOPLACENTON PADA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley*” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Kedokteran di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof. DR. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. DR. Dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes, Sp.PA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan selaku Pembimbing Akademik atas waktu dan bimbingannya;
3. Dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc selaku Pembimbing Satu yang telah bersedia meluangkan waktu, memberikan bimbingan, kritik, saran dan nasihat yang bermanfaat dalam penelitian skripsi ini;

4. Ibu Soraya Rahmanisa, S.Si., M.Sc., selaku Pembimbing Kedua yang telah bersedia meluangkan waktu, memberikan masukan, kritik, saran dan nasihat bermanfaat dalam penyelesaian skripsi ini;
5. Dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, S. Ked., M. Farm selaku Pembahas skripsi yang bersedia meluangkan waktu dan kesediannya untuk memberikan kritik, saran dan nasihat yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi ini;
6. Ayah dan Ibu tercinta, Bapak I Nyoman Diarsa dan Ibu Ni Nyoman Nuriyati, terima kasih atas segala doa, cinta, dan dukungan baik fisik maupun psikis yang telah diberikan kepadaku hingga saat ini;
7. Saudara kandung saya, Made Aditya Putra, yang selalu memberikan dukungan dan kasih sayang;
8. Seluruh keluarga besar yang turut memberikan dukungan kepadaku untuk menyelesaikan pendidikan;
9. Seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas segala ilmu dan bimbingan yang kelak akan digunakan sebagai bekal dalam menjalankan tugas sebagai dokter;
10. Ny. N, yang telah bersedia memberikan tali pusatnya untuk digunakan dalam penelitian ini;
11. Sahabat, senior, dan mentor terbaik, Rossadea Atziza. Terimakasih atas segala waktu, ilmu, dan kasih nya dalam menuntun saya selama masa perkuliahan;
12. Teman yang selalu mendukung dan menemani saya, Luv Diz Grup ; Tassya, Dinah, Pertiwi, Yoan, , Elma, Helima, Ulama, Ramadirga, Fadlan, Zur'an, dan Rachman;

13. Teman yang selalu membantu baik dalam kehidupan sehari-hari maupun penelitian, Rumah Dina Sakti ; Ayu lingga, Dirga, Zulfikar MS, Cakra Wijaya, Yuwandita, dan Komang Yuda;
14. Teman yang tergabung dalam penelitian sel punca; Niken, Eka, Made Ari, Titik, dan Naomi, terimakasih atas segala bantuannya hingga skripsi ini dapat diselesaikan;
15. Lembaga Kemahasiswaan yang selalu saya banggakan, PMPATD PAKIS Rescue Team, terimakasih atas segala ilmu dan keluarga yang telah diberikan;
16. Ibu Nuriah dan Mbak Yani, atas segala bantuannya untuk proses ekstraksi;
17. Temanku, Dzulfiqar dan Gusti, yang selalu siap siaga membantu;
18. Teman-teman Angkatan 2014 (CRAN14L) yang tidak bisa disebutkan satu persatu;
19. Teman-teman Asdos Anatomi 2014, terimakasih atas segala pengalaman dan ilmu yang telah diberikan;
20. Last but not least, to the almost boyfriend who never was, thank you for giving me such a beautiful lesson of life.

Akhir kata, Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan.

Akan tetapi, semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna untuk pembaca.

Bandar Lampung, 23 Januari 2018

Penulis

Luh Dina Yulita

ABSTRACT

THE DIFFERENCE OF SECOND DEGREE BURNS HEALING ACCELERATION BETWEEN THE TOPICAL ADMINISTRATION OF HUMAN UMBILICAL CORD WHARTON'S JELLY MESENCHYMAL STEM CELLS AND BIOPLACENTON GEL IN *Sprague dawley* WHITE MALE RATS (*Rattus norvegicus*)

By

LUH DINA YULITA

Background: Burns is a condition that everyone possibly can go through. Burns sometimes have difficulty to heal without the administration of appropriate therapeutic regimens. Bioplacenton is a gel based medicine that is commonly used to treat burns. Mesenchymal stem cells that come from Wharton's Jelly human umbilical cord have variety of potentials that can help to accelerate burns healing process. The aim of this research is to know the difference of burns healing acceleration of second degree burn between the topical administration of WJSMCs and bioplacenton gel which cover the burn time healing process and burns wound size reduction.

Method: This research was a laboratory experimental study using 27 white rats, induced by second degree burn, and divided into three groups; negative control (K), gel bioplacenton (P1), and WJMSCs (P2). The observation was done for 28 days. Data were analyzed using One way ANOVA and Kruskal wallis.

Result: The average of burns healing time in each group was ; K = 26.78 days, P1 = 25.11 days, and P2 = 19.67 days. The differences of wound size reduction occurred in day 8, 12, 16, 20, and 24.

Conclusion: There were significantly differences of burns healing time and burns wound size reduction between the three groups. WJMSc was the group with the fastest healing time and largest wound size reduction.

Keywords: bioplacenton, burns, burns healing process, human umbilical cord *Wharton's Jelly* mesenchymal stem cells.

ABSTRAK

PERBEDAAN KECEPATAN PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DERAJAT II ANTARA PEMBERIAN TOPIKAL SEL PUNCA MESENKIMAL *WHARTON'S JELLY* TALI PUSAT MANUSIA DENGAN GEL BIOPLACENTON PADA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) *GALUR Sprague dawley*

Oleh

LUH DINA YULITA

Latar Belakang: Luka bakar merupakan suatu keadaan yang dapat dialami setiap manusia. Luka bakar sering sulit sembuh tanpa pemberian regimen terapi yang tepat. Bioplacenton merupakan gel yang sering digunakan untuk mengobati luka bakar. Sel punca mesenkimal yang berasal dari *Wharton's Jelly* tali pusat manusia memiliki berbagai potensi yang dapat membantu proses penyembuhan luka bakar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kecepatan penyembuhan luka bakar derajat II antara pemberian gel bioplacenton dan WJSMCs meliputi waktu penyembuhan dan penyusutan diameter ukuran luka.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan 27 ekor tikus putih yang diinduksi luka bakar derajat II dan dibagi menjadi tiga kelompok; perlakuan negatif (K), gel bioplacenton (P1), dan WJSMCs (P2). Pengamatan terhadap waktu penyembuhan dan penyusutan diameter luka dilakukan selama 28 hari. Data dianalisis menggunakan uji statistik *One way ANOVA* dan *Kruskal wallis*.

Hasil: Rata-tata waktu penyembuhan luka bakar kelompok K=26,78 hari, P1=25,11 hari, dan P2=19,67 hari. Perbedaan penyusutan ukuran luka terjadi di hari ke-8,12,16,20, dan 24.

Kesimpulan: Terdapat perbedaan waktu penyembuhan dan penyusutan ukuran luka bakar yang antarkelompok perlakuan. WJMSc merupakan kelompok dengan waktu penyembuhan tercepat dan penyusutan diameter luka terbesar.

Kata kunci: gel bioplacenton, luka bakar, sel punca mesenkimal *Wharton's Jelly* tali pusat manusia, proses penyembuhan luka bakar.

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Manfaat Bagi Penulis.....	6
1.4.2 Manfaat bagi peneliti lain	7
1.4.3 Manfaat bagi Instansi Terkait	7
1.4.4 Manfaat bagi Masyarakat.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Struktur dan Fungsi Kulit.....	8
2.1.2 Epidermis	8
2.1.2 Dermis.....	11
2.1.3 Subkutan	12
2.2 Luka Bakar	13
2.2.1 Klasifikasi Luka Bakar	14
2.3 Proses Penyembuhan Luka Bakar.....	16

2.3.1 Fase Hemostasis.....	16
2.3.2 Fase Inflamasi	17
2.3.3 Fase Proliferasi	19
2.3.4 Fase <i>Remodeling</i>	21
2.4 Gel Bioplacenton	22
2.5 Sel Punca.....	23
2.6 Sel Punca Mesenkimal <i>Wharton's Jelly</i> Tali Pusat Manusia.....	25
2.7 Gambaran Umum Hewan Coba	27
2.8 Kerangka Penelitian	31
2.8.1 Kerangka Teori	31
2.8.2 Kerangka Konsep.....	32
2.9 Hipotesis	32
BAB III METODELOGI PENELITIAN.....	33
3.1 Jenis Penelitian.....	33
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	33
3.3 Subjek Penelitian	33
3.3.1 Populasi Penelitian.....	33
3.3.2 Sampel Penelitian	35
3.4 Rancangan Penelitian.....	37
3.5 Identifikasi Variabel Penelitian.....	37
3.5.1 Variabel Bebas	37
3.5.2 Variabel Terikat	37
3.6 Definisi Operasional Variabel Penelitian.....	38
3.7 Alat dan Bahan.....	39
3.7.1 Alat Penelitian.....	39
3.7.2 Bahan Penelitian	39
3.8 Cara Kerja	40
3.8.1 Tahap Persiapan	40
3.8.2 Tahap Pengujian	44

3.9 Alur Penelitian	46
3.10 Pengolahan dan Analisis Data	47
3.10.1 Pengolahan Data	47
3.10.2 Analisis Data	47
3.11 Kaji Etik	49
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	50
4.1 Gambaran Umum Penelitian.....	50
4.2 Hasil Penelitian	51
4.2.1 Waktu Penyembuhan	51
4.2.2 Penyusutan Diameter Luka.....	56
4.3 Pembahasan.....	64
4.4 Keterbatasan Penelitian.....	69
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	71
5.1 Simpulan	71
5.2 Saran	72
DAFTAR PUSTAKA	73

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Informasi Bioplacenton.....	22
2. Definisi operasional variabel penelitian.....	38
3. Pengaturan Randomisasi Hewan Uji.....	41
4. Waktu Penyembuhan Luka Bakar Pada Hewan Coba.....	51
5. Hasil Uji Normalitas Waktu Penyembuhan Luka.....	52
6. Hasil Uji Analisis Univariat Waktu Penyembuhan Luka.....	53
7. Hasil Uji Homogenitas <i>Levene's statistic test</i> Waktu Penyembuhan Luka.....	54
8. Hasil Uji <i>One way</i> ANOVA Perbedaan Waktu Penyembuhan Luka.....	54
9. Analisis <i>Post Hoc Bonferroni</i> Perbedaan Waktu Penyembuhan Luka.....	55
10. Proses Penyembuhan Luka Pada Hewan Coba.....	56
11. Hasil Uji Normalitas Penyusutan Diameter Luka.....	60
12. Hasil Uji Analisis Univariat Penyusutan Diameter Luka.....	61
13. Hasil Uji Analisis Univariat Penyusutan Diameter Luka.....	62
14. Hasil Uji <i>One way</i> ANOVA Perbedaan Penyusutan Diameter Luka.....	63
15. Hasil Uji <i>Kruskal Wallis</i> Perbedaan Penyusutan Diameter Luka.....	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Histologi Kulit.....	13
2. Asal dan Sifat Sel Punca.	24
3. Komponen Penyusun Tali Pusat Manusia.....	26
4. Tikus Putih Jantan (<i>Rattus Norvegicus</i>) Galur Sprague Dawley.	29
5. Kerangka Teori.....	31
6. Kerangka Konsep.	32
7. Luka Bakar Derajat II Pada Hewan Coba.	44
8. Alur Penelitian.	46
9. Perbandingan Penyusutan Diameter Luka Pada Kelompok Perlakuan.....	64

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka bakar merupakan suatu keadaan yang dapat dialami setiap manusia. Luka bakar adalah salah satu bentuk trauma yang terjadi pada kulit atau jaringan lainnya disebabkan oleh panas, radiasi ultraviolet, energi elektromagnetik, sengatan arus listrik atau kontak dengan bahan kimia berbahaya (Sjamsuhidajat *et al.*, 2010). Luka bakar sering menimbulkan dampak yang merugikan bagi manusia baik secara fisik maupun psikologis. Rusaknya kulit akibat trauma luka bakar akan mengganggu fungsi termoregulatorik, sensorik, protektif, metabolik, dan sinyal seksual dari kulit (Mescher, 2016). Menurut WHO, terdapat sekitar 265.000 kematian di dunia setiap tahunnya yang disebabkan oleh luka bakar. Luka bakar juga dapat menyebabkan kecacatan (WHO, 2017). Trauma akibat luka bakar kerap menimbulkan stress dan pada keadaan tertentu dapat memicu suatu keadaan stress pasca trauma atau *Post Traumatic Syndrome Disorder* (Brunner & Suddarth, 2010).

Luka bakar diklasifikasikan menjadi empat derajat sesuai dengan dalamnya trauma pada lapisan kulit yaitu luka bakar derajat I (*superficial burn*), luka bakar derajat II (*partial thickness burn*), derajat III (*full thickness burn*), dan

derajat IV (*burn extension to deep tissue*) (ABA, 2009). Proses penyembuhan luka bakar tidak jauh berbeda dengan luka lainnya, proses ini meliputi fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan proses perbaikan atau *remodeling* jaringan. Tahapan-tahapan ini terjadi secara tumpang tindih dan untuk mencapai kesembuhan yang optimal maka semua tahapan di atas harus berjalan dengan urutan dan kurun waktu yang tepat (Rowan *et al.*, 2015).

Luka bakar derajat II (*partial-thickness burn*) merupakan luka bakar dengan kedalaman trauma yang mencapai lapisan dermis. Luka bakar derajat II dapat sembuh tanpa meninggalkan gejala sisa apabila ditangani dengan regimen terapi yang tepat, namun luka bakar derajat II sering kali mengalami perburukan dan berkembang menjadi luka bakar derajat tiga (*full-thickness burn*) akibat penanganan yang tidak adekuat. Pada luka bakar derajat II terdapat zona krisis yaitu zona stasis, area yang menggambarkan jaringan dengan perfusi yang rendah akibat vasokonstriksi, pembentukan edema, dan trombosis sebagai mekanisme homeostasis terhadap trauma luka bakar. Zona ini dapat diselamatkan dari krisis oksigenisasi dan sembuh dengan pemberian regimen dan penanganan yang benar, namun apabila tidak ditangani dengan benar dapat menyebabkan terbentuknya jaringan nekrosis seperti pada zona koagulasi (Schmauss *et al.*, 2013). Hal ini akan mempersulit proses penyembuhan luka dan pada keadaan yang serius dapat menimbulkan komplikasi seperti sepsis, sindrom gagal organ multipel, dan komplikasi lainnya (Rose & Chan, 2016).

Bioplacenton merupakan salah satu obat topikal yang sering digunakan untuk mengobati luka bakar dalam bentuk gel. Gel Bioplacenton digunakan untuk mengobati luka bakar atau luka lain dengan infeksi. Kandungan aktif dalam gel bioplacenton yang digunakan untuk pengobatan luka bakar adalah ekstrak plasenta *ex bovine* 10% dan neomisin sulfat 0,5%. Ekstrak plasenta dipercaya dapat membantu proses penyembuhan luka bakar dengan cara memicu pembentukan jaringan baru pada luka dan neomisin sulfat bekerja sebagai antibiotik untuk mencegah infeksi bakteri gram negatif (MIMS, 2017).

Saat ini banyak penelitian yang mengembangkan terapi gen sebagai alternatif pengobatan. Terapi gen adalah sebuah teknik penggunaan gen untuk mencegah atau mengobati suatu penyakit. Terdapat banyak pendekatan dari terapi ini, salah satunya adalah mengenalkan suatu gen baru kepada tubuh manusia untuk membantu proses penyembuhan suatu penyakit (Genetic Home Reference, 2017). Terapi gen yang saat ini sedang banyak dikembangkan dan dipercaya memberikan manfaat yang menjanjikan adalah *stem cell therapy* atau terapi sel punca. Terapi ini memanfaatkan sel punca untuk memberikan harapan akan sembuhnya suatu penyakit dengan menciptakan sebuah terapi yang dapat memperbaiki atau mengganti sel yang mengalami kerusakan (The National Academid, 2011).

Sel punca adalah bagian dari sebuah jaringan yang memiliki kemampuan untuk memperbarui diri dan berdiferensiasi menjadi bentuk sel lainnya sebagai upaya untuk mempertahankan kelangsungan kehidupan sel pada jaringan tersebut (Watt & Driskell, 2010). Terdapat dua tipe sel punca yaitu

sel punca tipe embrionik dan non embrionik (sel punca dewasa). Sel punca embrionik merupakan sel punca yang berasal dari sel masa dalam blastokista yang penggunaannya masih menjadi kontroversi etik karena dianggap menggagalkan kehidupan suatu individu (The National Academid, 2011). Salah satu tipe dari sel punca non embrionik adalah sel punca mesenkimal yang dapat diisolasi dari beberapa jaringan tubuh seperti sumsum tulang, jaringan adiposa, darah perifer, jaringan perivaskular tali pusat (*Wharton's Jelly*), dan plasenta (Puranik *et al.*, 2012).

Sel punca mesenkimal merupakan sel punca yang dapat berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel-sel penyusun jaringan mesenkimal seperti osteoblas, adiposit, dan kondrosit (Nagamura-Inoue dan He, 2014). Mikako Sakaki (2008) berdasarkan hasil penelitiannya menyebutkan bahwa sel punca mesenkimal dapat berdiferensiasi menjadi sel lain pada garis keturunan berbeda dengan jaringan mesenkimal baik secara *in vitro* maupun *in vivo* dengan ditemukannya *marker* sel keratinosit, endotelial, dan perisit dari sel punca mesenkimal pada daerah luka hewan percobaan *Mus musculus* (Sasaki *et al.*, 2008). Sel punca mesenkimal juga dapat menstimulasi migrasi dan proliferasi dari fibroblas yang berperan penting pada proses penyembuhan luka yaitu tahap proliferasi (Padeta *et al.*, 2017). Sel punca mesenkimal mensekresikan berbagai molekul bioaktif seperti *growth factor* dan sitokin yang akan menstimulasi proses perbaikan jaringan dan mencegah inflamasi yang berlebihan (Wang *et al.*, 2012).

Sel punca mesenkimal dapat diisolasi dari berbagai jaringan tubuh, salah satunya adalah *Wharton's Jelly* tali pusat manusia (WJMSCs), jaringan ikat mukosa yang terletak di antara epitel amnion dan pembuluh darah umbilikal (Taghizadeh *et al.*, 2011). Pada analisis *flowcytometry*, ditemukan adanya *marker* sel punca mesenkimal (SH2,SH3) pada sel punca yang diisolasi dari *Wharton's Jelly* tali pusat manusia (Wang *et al.*, 2004). Sel ini memiliki kapasitas proliferasi yang cepat dan supresi sistem imun yang minimal (Chen *et al.*, 2015). Melalui mekanisme penyampaian sinyal secara parakrin, sel ini dapat membantu proses penyembuhan luka melalui re-epitelisasi jaringan kulit yang rusak, neurovaskularisasi, dan proliferasi fibroblas (Arno *et al.* 2014). Namun saat ini pemanfaatan tali pusat khususnya *Wharton's Jelly* masih belum banyak diketahui oleh masyarakat.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian untuk mempelajari potensi sel punca mesenkimal yang berasal dari *Wharton's Jelly* tali pusat manusia sebagai suatu terapi penyembuhan luka bakar merupakan suatu hal yang menarik untuk diteliti. Penelitian ini mempelajari tentang perbedaan kecepatan penyembuhan luka bakar derajat II yang meliputi waktu penyembuhan dan diameter penyusutan luka bakar antara pemberian topikal sel punca mesenkimal *Wharton's Jelly* tali pusat manusia dengan gel bioplacenton yang mengandung ekstrak plasenta *ex-bovine* 10% dan neomisin sulfat pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

1.2 Rumusan Masalah

Dari uraian latar belakang di atas dengan demikian didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

- a. Apakah terdapat perbedaan rerata waktu penyembuhan luka bakar derajat II antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal *Wharton's Jelly* tali pusat manusia dengan gel bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* ?
- b. Apakah terdapat perbedaan rerata penyusutan diameter luka bakar derajat II antara pemberian topikal sel punca mesenkimal *Wharton's Jelly* tali pusat manusia dengan gel bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui perbedaan kecepatan penyembuhan luka bakar derajat II yang meliputi waktu penyembuhan dan penyusutan diameter luka bakar antara pemberian topikal sel punca mesenkimal *Wharton's Jelly* 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 kecepatan penyembuhan luka bakar antara pemberian topikal ekstrak

sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan gel bioplacenton tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

1.4.2 Manfaat bagi peneliti lain

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar penelitian lebih lanjut mengenai potensi penggunaan ekstrak sel punca mesenkimal *Wharton's Jelly* tali pusat manusia pada penyembuhan luka bakar.

1.4.3 Manfaat bagi Instansi Terkait

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi ilmiah serta masukan pengembangan terapi untuk penyembuhan luka bakar.

1.4.4 Manfaat bagi Masyarakat

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan bagi masyarakat luas mengenai pengobatan luka bakar menggunakan ekstrak sel punca mesenkimal *Wharton's Jelly* tali pusat.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Struktur dan Fungsi Kulit

Kulit merupakan organ yang mempunyai peran penting bagi manusia. Kulit memiliki fungsi protektif (melindungi dari rangsang termal dan mekanis, mencegah penetrasi mikroorganisme berbahaya, dan melindungi sel dari radiasi sinar ultraviolet), sensorik (reseptor terhadap rangsang taktil), termoregulasi (pengaturan produksi keringat), metabolik (sintesis vitamin D₃), dan sinyal seksual. Dengan fungsinya yang sangat beragam, kulit membentuk 15-20 % berat badan total dan pada orang dewasa memiliki luas permukaan 1,5-2 m² yang berhubungan dengan dunia luar. Kulit terdiri atas tiga lapisan yaitu epidermis (lapisan epitel yang berasal dari ektoderm), dermis (lapisan jaringan ikat yang berasal dari mesoderm), dan subkutan (jaringan ikat longgar yang terdiri atas sel-sel adiposit) (Mescher, 2016).

2.1.2 Epidermis

Epidermis merupakan lapisan terluar kulit. Epidermis tersusun atas beberapa jenis sel yaitu epitel gepeng berkeratin, sel melanosit, sel langerhans (penyaji antigen), dan sel merkel (sel taktil epitelial). Sel epitel gepeng berkeratin merupakan komponen sel terbanyak penyusun epidermis, sel-sel ini membentuk lapisan yang disebut keratinosit yang

menghasilkan protein keratin. Keratinosit terdiri atas lima lapisan dari bagian dasar hingga ke permukaan luar epidermis yaitu lapisan yaitu stratum basal, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidum, dan stratum korneum.

Stratum basalis merupakan lapisan terbawah dari epidermis. Stratum basalis terdiri atas selapis sel kuboid atau kolumnar basofilik yang berada di atas membran basal pada perbatasan epidermis dan dermis. Untuk mempertahankan kedudukannya, sel-sel epitel kuboid pada stratum basal diikat oleh hemidesmosom pada lamina basal dan desmosom pada permukaan atas dan lateralnya. Stratum basal merupakan lapisan dengan aktivitas mitosis tertinggi, pada stratum basal terdapat beberapa sel punca yang memproduksi keratinosit dan bertanggung jawab atas regenerasi sel-sel epidermis secara berkesinambungan. Keratinosit terdiri atas filamen tonofibril yang membentuk protein keratin yang keras pada lapisan superfisial epidermis berfungsi untuk melindungi lapisan di bawahnya dari kerusakan. Epidermis manusia diperbarui setiap 15-30 hari tergantung pada usia, bagian tubuh, dan faktor lainnya.

Stratum spinosum merupakan lapisan epidermis yang paling tebal terdiri atas 8-10 lapisan sel epitel kuboid atau agak gepeng dengan nukleolus dan sitoplasma yang aktif mensintesis filamen keratin. Pada stratum spinosum, sel-sel yang terletak tepat di atas lapisan basal memiliki organela yang sama dengan sel epitel pada stratum basal

sehingga sel pada lapisan ini juga memiliki aktivitas mitosis, membelah diri untuk menghasilkan sel-sel epidermis. Sel-sel epitel gepeng pada lapisan ini memproduksi lebih banyak keratin dibandingkan pada stratum basal. Keratin akan bergabung membentuk berkas tonofibril dan melalui taut desmosom akan berhubungan dengan tonofibril pada sel lainnya. Ketebalan stratum spinosum pada setiap area tubuh berbeda sesuai dengan fungsinya masing-masing, telapak kaki yang rentan terhadap gesekan dan tekanan memiliki stratum spinosum yang lebih tebal dengan jumlah tonofibril dan desmosom yang lebih banyak.

Stratum granulosum terdiri atas 3-5 lapis sel poligonal yang mengalami diferensiasi terminal. Sel pada lapisan ini memiliki sitoplasma yang berisikan masa basofilik yang disebut granul keratohialin. Pada lapisan ini sel diliputi oleh lipid yang menjadi komponen penting bagi kulit sebagai sawar epidermis terhadap kehilangan air dari kulit. Stratum lusidum hanya terdapat pada kulit yang tebal terdiri atas lapisan tipis translusen sel eosinofilik yang sangat pipih. Pada lapisan ini sel tidak lagi memiliki inti dan sitoplasma hampir sepenuhnya berisi filamen keratin padat. Lapisan terakhir dari epidermis adalah stratum korneum yang terdiri atas 15-20 epitel gepeng tanpa inti dengan sitoplasma yang dipenuhi oleh keratin filamentosa.

Stratum lusidum merupakan lapisan kedua terluar dari epidermis. Lapisan ini hanya ditemui pada kulit yang tebal. Sel pada lapisan ini

tidak memiliki inti sel dengan sitoplasma yang telah dipenuhi oleh filamen keratin.

Lapisan terluar adalah stratum korneum yang terdiri atas 15-20 lapis sel gepeng berkeratin tanpa inti dengan sitoplasma yang dipenuhi oleh keratin. Pada sel ini terdapat tonofilamen yang mengalami perubahan komposisi setiap epidermis mengalami diferensiasi. Apabila sel mengalami keratisasi, sel akan kehilangan tonofibril menyisakan protein amorf dan fibrilar yang menyebabkan penebalan membran plasma dan membentuk sel bertanduk (Tortora & Derrickson, 2012; Mescher, 2016).

2.1.2 Dermis

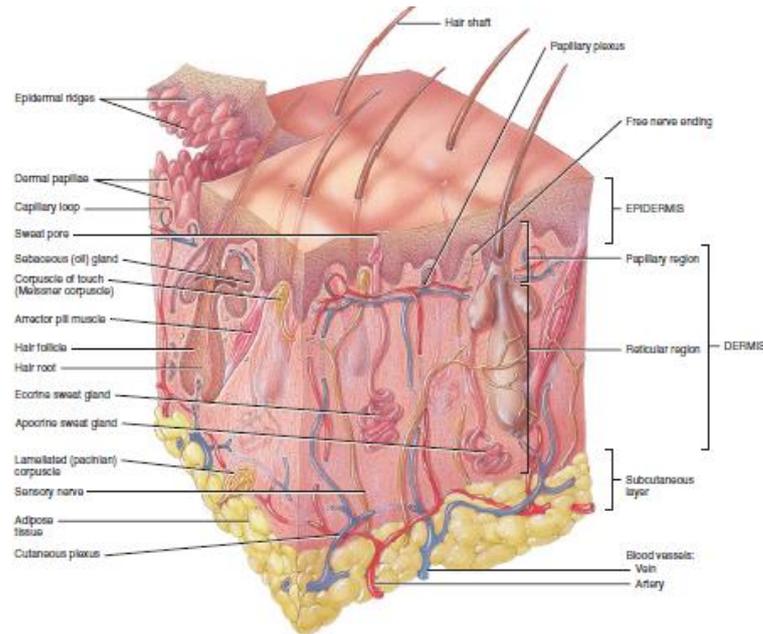
Dermis merupakan lapisan kedua kulit, berada tepat di bawah epidermis, lapisan ini terdiri atas jaringan ikat yang tidak beraturan yang disusun oleh kolagen dan serat elastis. Komponen penyusun dermis menyebabkan dermis memiliki struktur yang dapat kuat dan diregangkan secara bersama. Pada bagian atas dermis yang tepat berbatasan dengan lamina basalis dari stratum epidermis, dermis memberikan gambaran berupa tonjolan-tonjolan yang disebut dengan papila yang bertautan dengan lamina basalis stratum membentuk taut dermis-epidermis yang disebut dengan *cristae cutis* atau *epidermal ridges* (Erosschenko, 2010; Tortora & Derrickson, 2012).

Secara struktural dan fungsional, dermis terbagi menjadi dua lapisan yaitu stratum papilar dan stratum retikular. Stratum papilar merupakan

jaringan ikat longgar tidak teratur yang terdiri atas pembuluh darah, fibroblas, sel mast, makrofag, dan sel jaringan ikat lainnya. Stratum rentikular lebih tebal dibandingkan lapisan papilar, yang terdiri atas jaringan ikat pada iregular disusun oleh kolagen tipe I. Pada lapisan ini terdapat serat elastin yang menjaga elastisitas kulit. Dermis merupakan lapisan tempat derivat dari epidermis berupa folikel rambut dan kelenjar. Pada dermis juga terdapat komponen persarafan seperti saraf efektor dari serabut pascaganglionik ganglia simpatis dan serabut saraf aferen yang membentuk di sekitar papila dermis dan folikel rambut berakhir pada sel taktil epitelial pada reseptor di dermis (Mescher, 2016).

2.1.3 Subkutan

Lapisan subkutan juga disebut dengan lapisan hipodermis atau fascia superficialis. Lapisan ini terdiri atas jaringan ikat longgar yang mengikat kulit secara longgar pada organ-organ yang berada di bawahnya, yang memungkinkan pergeseran kulit di atasnya. Lapisan subkutan mengandung banyak lemak yang jumlahnya bervariasi pada setiap area tubuh (Mescher, 2016).



Gambar 1. Histologi Kulit
(Tortora & Derrickson, 2012).

2.2 Luka Bakar

Luka bakar merupakan suatu bentuk trauma pada kulit atau jaringan lainnya yang disebabkan oleh kontak terhadap panas atau pajanan akut lain baik secara langsung maupun tidak langsung. Luka bakar terjadi saat sel yang ada pada kulit atau jaringan lainnya mengalami kerusakan akibat cairan panas, benda panas, api, radiasi, bahan radioaktif, sengatan listrik, dan bahan kimia berbahaya. Proses penyembuhan luka bakar bervariasi sesuai dengan derajat kedalaman luka bakar. Kedalaman luka bakar ditentukan oleh berbagai faktor seperti besarnya temperatur, luas trauma, lamanya kontak dengan sumber panas, dan ketebalan kulit (Singer *et al.*, 2014).

2.2.1 Klasifikasi Luka Bakar

2.2.1.1 Menurut Etiologi

Menurut etiologinya luka bakar dibagi menjadi empat yaitu *thermal burn* luka bakar yang disebabkan oleh adanya kontak dengan suhu tinggi, *chemical burn* luka bakar yang disebabkan oleh kontak dengan zat kimia berbahaya, *electrical burn* luka bakar yang disebabkan oleh adanya kontak dengan sumber listrik, dan *radiation burn* luka bakar yang disebabkan oleh adanya paparan terhadap radiasi. Hal-hal yang dapat menyebabkan luka bakar antara lain adalah radiasi sinar matahari, percikan api, sentuhan dengan benda panas, sengatan arus listrik, dan bahan kimia berbahaya berupa asam kuat maupun basa kuat

2.2.1.2 Menurut Kedalaman Luka

Menurut kedalaman luka pada kulit dan jaringan dibawahnya, luka bakar dibedakan menjadi empat derajat yaitu derajat I, derajat II, derajat III, dan derajat IV.

a. Luka Bakar Derajat I (*Superficial Burn*)

Merupakan luka bakar yang terbatas pada lapisan epidermis ditandai dengan adanya eritema dan rasa nyeri seperti kulit yang terbakar akibat sengatan sinar matahari. Luka bakar derajat satu dapat sembuh dalam waktu 5-7 hari.

b. Luka Bakar Derajat II (*Partial-thickness Burn*)

Merupakan luka bakar dengan kedalaman luka yang mencapai lapisan dermis tetapi masih terdapat elemen epitel sehat yang tersisa pada stratum basal, kelenjar sebacea, kelenjar keringat, dan pangkal rambut. Luka bakar derajat II terbagi menjadi dua bagian yaitu luka bakar derajat IIa (*superficial partial thickness injuries*) dan luka bakar derajat IIb (*deep partial thickness injuries*). Luka bakar derajat IIa terbatas pada papilar dermis yang ditandai dengan adanya eritema dan bula dengan permukaan yang lembab disertai rasa nyeri pada luka.

Pada luka bakar derajat IIb luka mencapai lapisan rentikular dermis dengan eritema dan bula yang kurang lembab dibandingkan dengan luka bakar derajat IIa. Walaupun keduanya mengenai dermis, luka bakar derajat IIb memberikan tanda klinis yang lebih lama dibandingkan luka bakar derajat IIa dan sering menimbulkan bekas luka yang sulit dihindari. Timbulnya bula pada luka derajat II karena adanya cairan eksudat berada diantara lapisan dermis dan epidermis yang keluar dari pembuluh darah akibat peningkatan permeabilitas pembuluh kapiler yang rusak akibat luka bakar.

c. Luka Bakar Derajat III (*full thickness burn*)

Merupakan luka bakar yang meliputi seluruh epidermis, dermis, dan mencapai lapisan subkutis. Pada luka bakar derajat tiga tidak ada sisa elemen epitel sehat tersisa yang memungkinkan untuk terbentuknya eskar yang merupakan jaringan nekrosis akibat denaturasi protein jaringan kulit. Luka tampak kaku, kering, dan berwarna putih atau coklat. Luka bakar derajat tiga tidak memberikan rasa sakit akibat rusaknya ujung saraf pada lapisan dermis.

d. Luka Bakar Derajat IV (*Burn extesion to deep tissue*)

Merupakan luka bakar yang meliputi seluruh lapisan kulit termasuk lapisan subkutan hingga ke otot maupun tulang. Tampilan luka terlihat kaku, kering, terbakar, dan dijumpai adanya trombus (ABA, 2009; Singer *et al.*, 2014).

2.3 Proses Penyembuhan Luka Bakar

Proses penyembuhan luka bakar tidak berbeda dengan proses penyembuhan luka lainnya. Penyembuhan luka bakar terdiri atas empat fase yaitu fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase *remodeling*. Proses ini dapat terjadi secara tumpang tindih antara satu tahap dengan tahap lainnya (Guo & Dipietro, 2010).

2.3.1 Fase Hemostasis

Hemostasis adalah kemampuan tubuh untuk menghentikan perdarahan pada saat terjadi trauma dan mencegah terjadinya perdarahan spontan yang berkelanjutan. Trauma akibat luka bakar dapat menyebabkan

pembuluh darah pada lapisan kulit rusak hingga menimbulkan perdarahan (Sjamsuhidajat *et al.*, 2010). Pembuluh darah yang rusak akan melakukan mekanisme vasokonstriksi untuk menghentikan perdarahan melalui refleks neurogenik dan sekresi lokal *endotelin*. Selanjutnya, akibat adanya kerusakan endotel pembuluh darah menyebabkan terpaparnya matriks ekstrasel subendotel yang bersifat trombogenik mendorong terjadinya proses adhesi, aktivasi, dan agregasi trombosit untuk membentuk plak trombosit.

Plak trombosit akan diperkuat oleh benang-benang fibrin yang diperoleh dari pemecahan fibrinogen oleh trombin yang diaktivasi oleh tromboplastin akibat adanya kerusakan pada pembuluh darah (Kumar dan Abbas, 2015). Plak trombosit yang terbentuk dari fase hemostasis akan melepaskan kemotraktan berupa sitokin proinflamasi dan *growth factor* seperti *Transforming Growth Factor* (TGF-B), *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF), *Fibroblast Growth Factor* (FGF), dan *Epidermal Growth Factor* (EGF) yang akan menarik sel radang, sel endotel, dan fibroblas yang ada di sekitar daerah luka (Rowan *et al.*, 2015).

2.3.2 Fase Inflamasi

Inflamasi atau peradangan merupakan suatu respon protektif oleh jaringan untuk mengeradikasi mikroorganisme penyebab jejas atau membuang sel dan jaringan nekrotik yang disebabkan oleh kerusakan sel. Setelah fase hemostatis selesai, pelepasan histamin yang diinisiasi

oleh pengaktifkan kaskade komplemen akan menyebabkan vasodilatasi pembuluh darah kapiler yang meningkatkan aliran darah dan perubahan permeabilitas kapiler mempermudah migrasi sel radang menuju daerah luka. Selanjutnya neutrofil akan menuju daerah luka untuk mencerna bakteri dan membersihkan luka dari debris melalui pelepasan mediator sitotoksik (Sinno & Prakash, 2013).

Proses koagulasi yang berlangsung pada fase hemostasis akan mengaktifkan kaskade komplemen dengan disekresikannya bradikinin dan anafilatoksin c3a dan c5a yang menyebabkan peningkatan permeabilitas kapiler dan terjadi eksudasi cairan, penyebukan sel radang, disertai vasodilatasi setempat yang menyebabkan udem dan pembengkakan. Vasodilatasi akan menyebabkan peningkatan aliran darah setempat sehingga ujung kapiler akan penuh terisi darah menyebabkan ekspansi vaskular yang akan memberikan warna merah (eritema) dan rasa panas (kalor) sebagai dua tanda kardinal radang akut.

Peningkatan permeabilitas kapiler juga akan menyebabkan aliran sel darah dan cairan kaya protein menuju jaringan ekstrasvaskular. Akibatnya, tekanan osmotik pada ruang interstitial akan meningkat menyebabkan lebih banyak air keluar dari pembuluh darah menuju ruang interstitial sehingga terjadi edema jaringan. Penimbunan cairan kaya protein ini disebut dengan eksudat yang merupakan tanda khas radang akut. Reaksi vaskular berupa dilatasi pembuluh darah dan peningkatan permeabilitas kapiler akan menyebabkan peningkatan

aliran darah untuk membawa sel darah dan protein menuju tempat infeksi atau tempat jejas.

Pada tahap selanjutnya bakteri dan debris tersebut akan difagosit oleh makrofag. Makrofag merupakan bentuk monosit jaringan yang distimulasi oleh matriks ekstraseluler, *transforming growth factor β* (TGF β), dan *monocyte chemoattractant protein*. Selain menjalankan fungsi fagositosis, makrofag juga akan melepaskan enzim dan sitokin berupa *collagenase* yang akan membersihkan luka, interleukin dan *Tumor Necrosis Factor* (TNF) yang menstimulasi fibroblas, dan angiogenesis, dan *Transforming Growth Factor* yang akan menstimulasi pembentukan keratinosit. Makrofag juga akan mensekresi *growth factor* lain berupa *platelet-derived growth factor* dan *vascular endothelial growth factor* yang akan menginisiasi fase penyembuhan luka berikutnya yaitu fase proliferasi (Sinno & Prakash, 2013).

2.3.3 Fase Proliferasi

Pada fase proliferasi terdapat dua proses penting yang berjalan secara bersamaan yaitu proses angiogenesis (pembentukan pembuluh kapiler baru) dan penutupan luka bakar yang meliputi re-epitelisasi, pembentukan jaringan granulasi, dan deposisi kolagen pada daerah luka (Sinno & Prakash, 2013). Fase proliferasi ditandai dengan pengkatifan sel keratinosit dan fibroblas oleh sitokin dan *growth factor*. Kedua sel tersebut memegang peran yang sangat penting dalam fase ini (Rowan,

2015). Fase ini berlangsung dari akhir fase inflamasi sampai di minggu ketiga (Sjamsuhidajat *et al.*, 2010).

Epitelisasi merupakan proses pembentukan epitel baru pada permukaan kulit yang rusak akibat luka bakar. Sel keratinosit bermigrasi menuju bagian atas kulit untuk membantu proses perbaikan lapisan kulit yang rusak akibat luka bakar (Rowan, 2015). Keratinosit berasal dari sel epitel stratum basalis yang masih utuh atau apendiks kulit apabila stratum basalis mengalami kerusakan, sel ini akan bermigrasi dan berdiferensiasi menjadi keratinosit ke bagian atas dari stratum basal untuk menautkan tepi luka dan menutup luka. Proses ini akan berhenti saat epitel saling menyentuh dan menutup seluruh permukaan luka (Sinno & Prakash, 2013).

Sel fibroblas yang berasal dari jaringan mesenkim yang mengalami diferensiasi dan menghasilkan bahan-bahan dasar pembentuk serat kolagen seperti mukopolisakarida, asam amino glisin, dan prolin. Serat kolagen secara terus menerus akan dibentuk dan dihancurkan kembali untuk menyesuaikan tegangan pada luka yang cenderung mengerut. Serat kolagen dan miofibroblas yang memiliki sifat kontraktile akan melakukan penarikan pada tiap tepi luka ke arah tengah untuk mengurangi luas luka. Pada fase ini regangan luka akan mencapai 25% jaringan normal (Sjamsuhidajat *et al.*, 2010).

Selain proses pertautan tepi luka, pada fase ini juga terjadi proses angiogenesis yang sangat penting dalam proses penyembuhan luka

khususnya pada fase proliferasi. Angiogenesis merupakan proses pembentukan pembuluh kapiler baru yang diperlukan untuk menyuplai kebutuhan nutrisi dan oksigen menuju daerah luka untuk mendukung proses pembentukan jaringan granulasi (Hamid & Soliman, 2015). Selama fase proliferasi bagian kulit yang mengalami luka akan dipenuhi oleh sel radang, fibroblas, dan kolagen yang akan membentuk suatu jaringan berwarna kemerahan mengandung pembuluh darah pada dasar luka yang disebut jaringan granulasi (Sjamsuhidajat *et al.*, 2010).

2.3.4 Fase *Remodeling*

Fase *remodeling* merupakan fase maturasi luka yang terdiri atas penyerapan sel-sel radang, pembentukan kolagen lanjut, penutupan dan penyerapan kembali pembuluh darah baru, pengerutan luka, dan pemecahan kolagen berlebih. Fase ini dimulai sejak akhir fase proliferasi dan dapat berlangsung hingga berbulan-bulan. Pada fase ini luka akan mengalami proses maturasi dengan serat kolagen dan elastin yang secara terus menerus akan disimpan dan dibentuk kembali bersamaan dengan perubahan fibroblas menjadi miofibroblas (Sinno & Prakash, 2013).

Perubahan dari fibroblas menjadi miofibroblas akan menyebabkan kontraksi dan peregangan jaringan luka untuk memperkecil luas permukaan luka hingga jaringan granulasi berubah menjadi jaringan bekas luka. Selain itu adanya apoptosis keratinosit dan sel inflamasi juga akan mempengaruhi proses penyembuhan luka dan bekas luka

yang terbentuk (Rowan *et al.*, 2015). Penyembuhan luka yang optimal bergantung pada keseimbangan antara produksi dan pemecahan kolagen yang optimal. Deposisi kolagen yang berlebihan akan menyebabkan terbentuknya jaringan parut yang tebal, sedangkan produksi kolagen yang kurang akan menurunkan kekuatan jaringan parut dan luka tidak akan menutup secara sempurna (Sinno & Prakash, 2013).

2.4 Gel Bioplacenton

Bioplacenton merupakan salah satu bentuk obat topikal yang digunakan untuk mengobati luka bakar dalam bentuk gel yang diproduksi oleh Kalbe Farma. Gel Bioplacenton diindikasikan untuk mengobati luka bakar atau luka lain dengan infeksi. Kandungan aktif dalam gel bioplacenton yang digunakan sebagai regimen pengobatan luka bakar adalah ekstrak plasenta 10% dan neomisin sulfat 0,5%. Ekstrak plasenta dipercaya dapat membantu proses penyembuhan luka bakar dengan cara memicu pembentukan jaringan baru pada luka dan neomisin sulfat bekerja sebagai antibiotik untuk mencegah infeksi bakteri gram negatif pada area luka (MIMS, 2017). Informasi lengkap mengenai gel bioplacenton disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Informasi Bioplacenton.

Produksi	Kalbe Farma
Distributor	Royal Ruby
Kandungan aktif	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
Penggunaan	
Dosis dan Administrasi	Gunakan 4-6 kali sehari dengan mengoleskan tipis pada kulit yang terluka.
Kelas MIMS	Antibiotik topikal

Tabel 1. (Lanjutan)

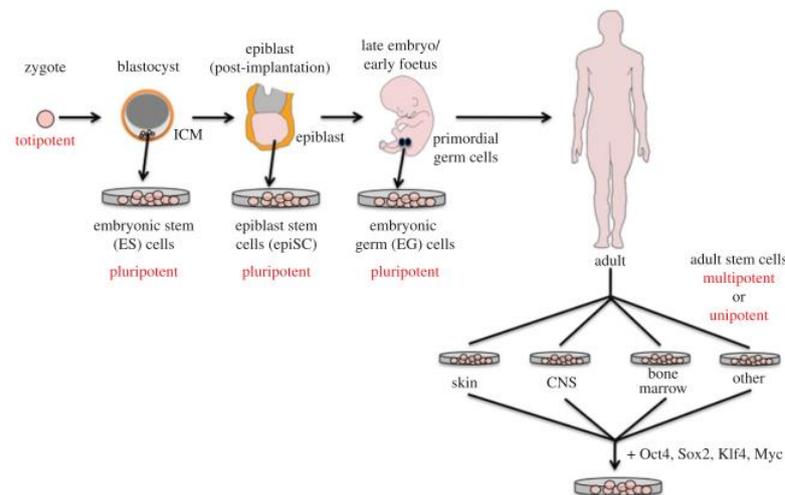
Penyimpanan	Simpan pada suhu kamar <30 °C dan lindungi dari panas matahari langsung
Penjelasan Produk	Setiap tabung 15 g mengandung ekstrak plasenta 10%, neomisin sulfat 0.5%, dan <i>jelly base</i> .
<i>Mechanism of Action</i>	Farmakologi: Bioplacenton adalah ekstrak plasenta khusus yang mengandung stimulator 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. 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. Kombinasi ekstrak plasenta dan neomisin sulfat dapat mempercepat proses penyembuhan luka, ulkus, dan infeksi kulit lainnya
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>)
Bentuk sediaan dan kemasan	Jeli 15 g

Sumber : (MIMS, 2017)

2.5 Sel Punca

Dalam bahasa Indonesia, *stem cell* diterjemahkan menjadi sel punca yang memiliki arti sel yang menjadi awal mula sel lainnya. Istilah ini diusulkan oleh Komisi Bioetika Nasional dan disetujui oleh Pusat Bahasa. Alexander Maksimov, seorang ahli histologi yang berasal dari Rusia pertama kali mengusulkan istilah *stem cell* pada tahun 1908 pada kongres hematologi di Berlin. Ia menyatakan postulatnya tentang keberadaan sel progenitor pembentuk sel-sel darah. Pada tahun 1978 James Edgar Till berhasil menemukan adanya *haematopoietic stem cell* pada susmsum tulang pada sumsum tulang tikus. Pada tahun 1978 teori postulat dari Alexander Maksimov berhasil dibuktikan dengan ditemukannya *haematopoietic stem cell* pada sumsum tulang manusia (Djauhari, 2010).

Sel punca atau *stem cell* merupakan sel yang belum terspesialisasi yang akan berkembang menjadi suatu sel dan membentuk berbagai jaringan pada tubuh manusia. Sel punca memiliki dua fungsi yaitu kemampuan untuk berdiferensiasi (*differentiate*) dan memperbarui dirinya sendiri (*self renew / self regenerate*). Menurut asalnya sel punca dibagi menjadi dua yaitu sel punca embrional dan sel punca ekstraembrional. Sel punca embrional merupakan sel punca yang didapatkan dari komponen pre-implantasi embrio yaitu sel masa dalam dari blastokista yang memiliki kemampuan pluripoten yang dapat berdiferensiasi menjadi semua jenis sel yang ada di tubuh manusia yang berasal dari tiga lapisan germinativum (Wang *et al.*, 2012). Jenis sel punca lainnya yaitu sel punca ekstraembrional, salah satunya adalah sel punca mesenkimal, sel punca yang ditemukan pada organ dewasa atau organ yang telah mengalami diferensiasi (The National Academid, 2011).



Gambar 2. Asal dan Sifat Sel Punca.
(Watt & Driskell, 2010).

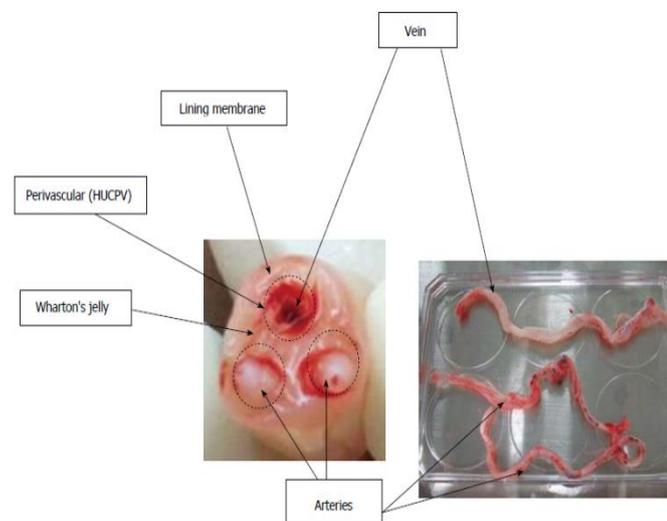
2.6 Sel Punca Mesenkimal *Wharton's Jelly* Tali Pusat Manusia

Sel punca mesenkimal pertama kali ditemukan pada tahun 1968 oleh Friendenstein yang mengatakan bahwa terdapat sekumpulan sel menyerupai fibroblas pada sumsum tulang yang dapat berdiferensiasi menjadi sel-sel pembentuk tulang. Dari pernyataannya tersebut penelitian mengenai stem sel mesenkimal terus dilakukan hingga saat ini. Sel punca mesenkimal dapat diisolasi dari berbagai jaringan seperti sumsum tulang, jaringan adiposa, darah perifer, tali pusat, plasenta, pulpa dentim, hepar fetus, dan paru-paru (Wang *et al.*, 2004; Nagamura-Inoue & He, 2014).

Tali pusat merupakan jaringan yang menghubungkan antara plasenta ibu dan janinnya pada masa gestasi guna menyuplai kebutuhan oksigen, glukosa, dan asam amino untuk menunjang kehidupan janin di dalam kandungan (Taghizadeh *et al.*, 2011). Tali pusat terdiri atas dua arteri dan satu vena yang diliputi oleh jaringan ikat mukosa yang disebut *Wharton's Jelly* yang berada di antara epitel amnion dan pembuluh darah umbilikal. Jaringan ikat mukosa ini ditemukan pertama kali oleh Thomas Wharton pada tahun 1965. *Wharton's Jelly* terdiri atas glikoprotein, kolagen, dan fibroblas yang diliputi oleh gel yang dibentuk dari asam hialuronat. Asam hialuronat merupakan salah satu jenis glikosaminoglikan yang dapat membantu proses penyembuhan luka (Price *et al.*, 2005).

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk menggali potensi dari *Wharton's Jelly* salah satunya adalah analisis *flowcytometry* pada *Wharton's Jelly* tali pusat manusia yang membuktikan bahwa adanya sel punca mesenkimal pada

jaringan ini dengan ditemukannya ekspresi *mesenchymal stem cell markers* (*SH2, SH3*). Selain itu Wharton's Jelly juga mengekspresikan *marker* untuk *matrix receptors* dan *integrin* yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka (Wang *et al.*, 2004). Sel punca mesenkimal yang berada dalam matriks jaringan ikat mukosa tali pusat ini terbentuk dan terperangkap saat proses embriogenesis (Taghizadeh & Cetrulo, 2011).



Gambar 3. Komponen Penyusun Tali Pusat Manusia.
(Nagamura-Inoue & He, 2014).

Sel punca mesenkimal memiliki empat kemampuan biologis yang dapat memberikan efek terapeutik yaitu kemampuan untuk bermigrasi menuju jaringan yang mengalami luka untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, mensekresi berbagai molekul bioaktif yang dapat membantu proses perbaikan komponen jaringan yang rusak, mempercepat proses regenerasi pada sel dan mencegah inflamasi, serta memodulasi sistem imun dengan efek imunogenisitas yang rendah (Wang *et al.*, 2012).

Sel punca mesenkimal akan mensekresikan berbagai molekul bioaktif berupa *growth factors*, sitokin, dan kemokin yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka. Molekul-molekul ini melalui sinyal parakrin akan berperan dalam meregulasi integritas sel, proliferasi sel, dan migrasi dari sel-sel yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka seperti sel epitel, endotel, keratinosit, dan fibroblast (Padeta *et al.*, 2017). Beberapa molekul bioaktif yang disekresikan oleh sel punca mesenkimal adalah prostaglandinE-2 (PGE2) yang berperan sebagai mediator vasokonstriksi dan anti inflamasi, interleukin-10 (IL-10) sebagai mediator anti-inflamasi, LL-37 peptida yang berperan sebagai anti inflamasi dan anti mikroba, angiopoietin-1 yang akan memperbaiki permeabilitas protein epitel, MMP3 MMP9 sebagai mediator neovaskularisasi, *basic fibroblast growth factor* (bFGF) dan *endothelial growth factor* (VEGF) protein yang akan memberikan sinyal pembentukan pembuluh darah, serta *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1) yang akan memicu proliferasi sel endotel dan otot polos. Molekul-molekul akan mencegah apoptosis dan menstimulasi regenerasi sel yang membantu proses penyembuhan luka bakar (Wang *et al.*, 2004).

2.7 Gambaran Umum Hewan Coba

Hewan percobaan atau hewan laboratorium merupakan hewan yang sengaja diternakkan dan dipelihara untuk dipakai sebagai hewan model dalam pengamatan laboratoris untuk pembelajaran dan pengembangan berbagai penelitian dalam berbagai bidang ilmu pengetahuan (Widiartini *et al.*, 2013). Tujuan penggunaan hewan coba dalam penelitian adalah meramalkan efek yang mungkin timbul dalam percobaan pada manusia baik efek patologik,

toksikologik, maupun fisiologik sehingga penggunaan hewan coba dapat bermanfaat untuk kepentingan diagnostik maupun terapeutik dalam dunia kedokteran (Koolhas, 2010).

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) terdiri atas tiga galur atau varietas yaitu *Sprague dawley*, *Wistar*, dan *Long Evans*. *Sprague dawley* merupakan salah satu varietas tikus albino hasil persilangan dari induk jantan yang tidak diketahui asalnya dan induk betina galur *Wistar*. Varietas ini dikembangkan oleh seorang ilmuwan kimia yang berasal dari Universitas Wisconsin, R.W. *Dawley* pada tahun 1925. *Rattus norvegicus* atau tikus albino memiliki kisaran berat badan 150-600 gram, hidung tumpul, panjang badan 18-25cm, kepala dan badan yang lebih pendek dibandingkan ekor, dan telinga kecil berukuran 20-23mm (Koolhas, 2010). Tikus galur *Sprague Dawley* dapat digunakan dalam berbagai percobaan ilmu kedokteran seperti percobaan pembedahan, studi umum, metabolisme dan nutrisi, neurologi, onkologi, farmakologi, fisiologi dan proses degeneratif, teratologi, dan toksikologi. Tikus galur *Sprague Dawley* lebih jinak dan mudah ditangani dibandingkan tikus galur lainnya (Janvier, 2017).



Gambar 4. Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*) Galur Sprague Dawley. (Koolhas, 2010).

Berikut taksonomi dari tikus putih (*Rattus norvegicus*) (Besselsen, 2004) :

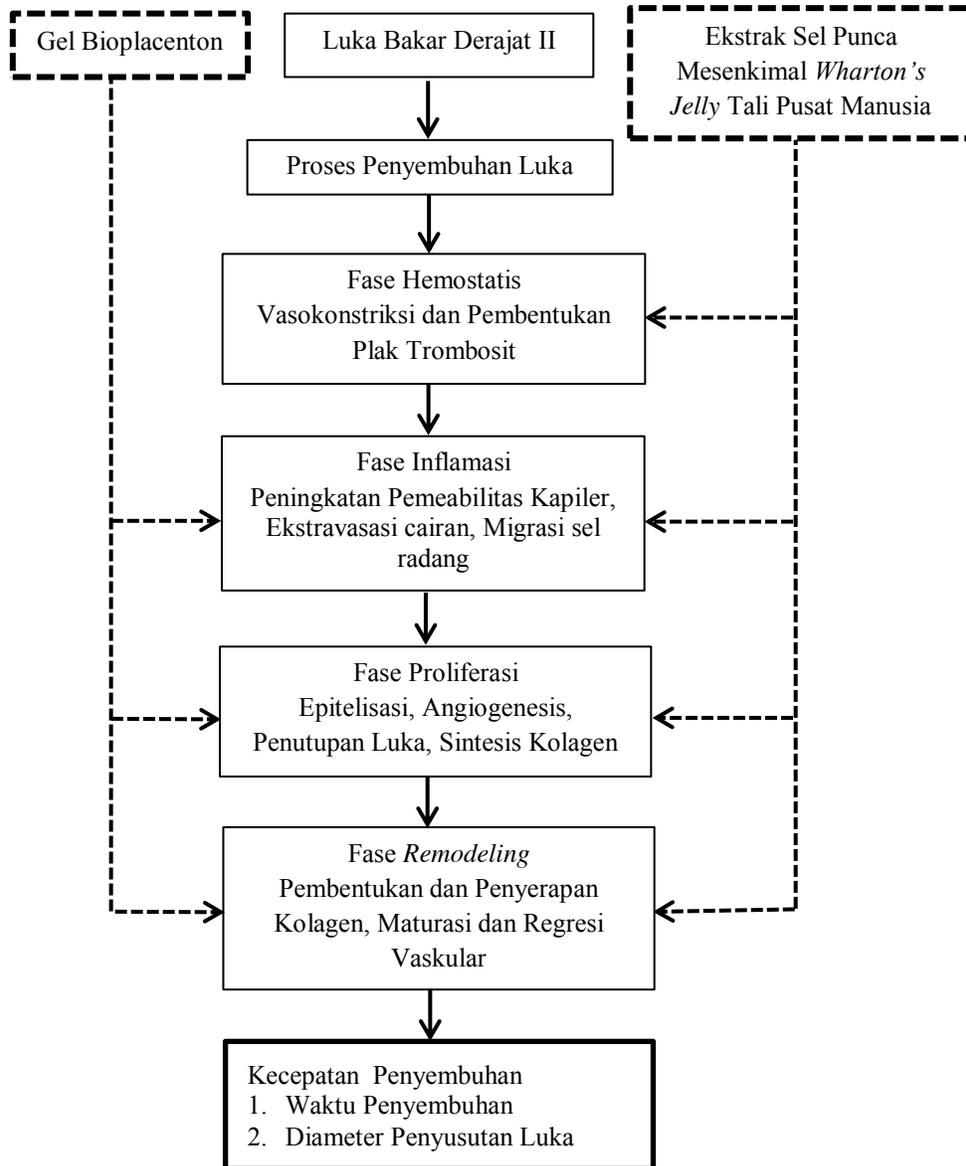
Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Subkelas	: Theria
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Sciurognathi
Famili	: Muridae
Subfamili	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Pertumbuhan dari tikus tidak hanya dipengaruhi oleh galurnya masing-masing, tetapi juga oleh kualitas dan ketersediaan pangan, temperatur, dan lingkungan sekitar. Oleh karena itu faktor-faktor tersebut harus dikendalikan

dengan baik untuk menjaga kelangsungan hidup tikus sebagai hewan coba. Pada saat penelitian berlangsung banyak hal yang harus diperhatikan untuk menjaga kondisi optimal tikus selama masa penelitian sebagai hewan coba. Tikus harus ditempatkan di dalam kandang dengan populasi yang tidak terlalu padat. Dan ditempatkan pada kandang yang memadai dengan mempertimbangkan berbagai aspek lingkungan fisik berupa cahaya, suara, suhu, dan getaran. Tikus sebaiknya ditempatkan pada kandang dengan luas 1500-1800m² dengan syarat ketinggian 22cm. Suhu ruangan kadang direkomendasikan berkisar pada angka 20-26°C dengan kelembaban udara 40-70%. Selain memperhatikan lingkungan fisik, pemberian makan dan minum tikus juga harus diperhatikan. Pakan dan air minum disediakan secara *ad libitum*, dimana pakan ini tidak hanya disediakan di tempat makan namun juga harus ditaburkan di lantai kandang tikus (Kementan RI, 2008).

2.8 Kerangka Penelitian

2.8.1 Kerangka Teori

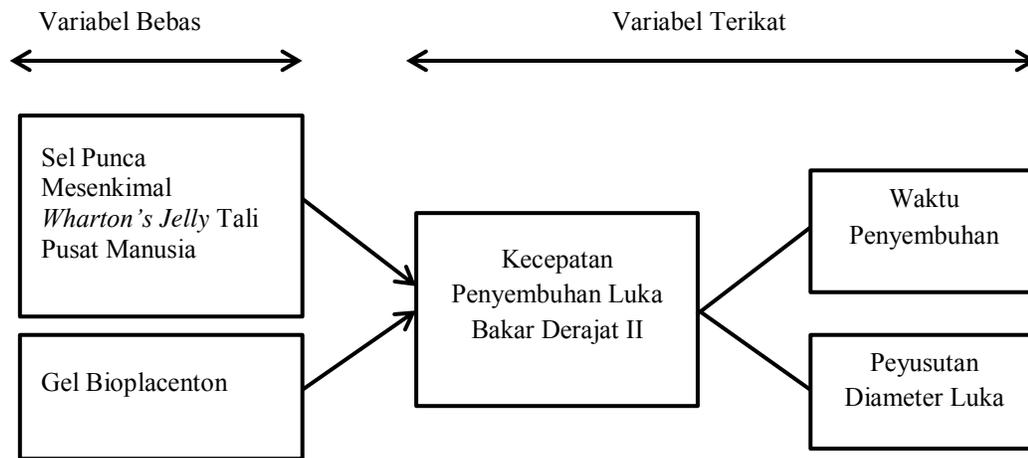


Keterangan :

 = Variabel Bebas = Variabel Terikat → = Mempercepat proses

Gambar 5. Kerangka Teori.
(Wang *et al.*, 2012; Padeta *et al.*, 2017).

2.8.2 Kerangka Konsep



Gambar 6. Kerangka Konsep.

2.9 Hipotesis

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

- H0 : Tidak terdapat perbedaan kecepatan penyembuhan luka bakar derajat II antara pemberian topikal sel punca mesenkimal *Wharton's Jelly* tali pusat manusia dengan gel bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) galur *Sprague dawley*.
- H1 : Terdapat perbedaan kecepatan penyembuhan luka bakar derajat II antara pemberian topikal sel punca mesenkimal *Wharton's Jelly* tali pusat manusia dengan gel bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

BAB III METEDOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik untuk mengetahui perbedaan kecepatan penyembuhan luka bakar derajat II antara pemberian topikal sel punca mesenkimal *Wharton's Jelly* tali pusat manusia dengan gel Bioplacenton pada tikus jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November-Desember 2017. Pembuatan sediaan topikal sel punca mesenkimal *Wharton's Jelly* tali pusat manusia dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler selama 5 hari dan pengamatan kecepatan penyembuhan luka bakar dilakukan di *Pet House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung selama 28 hari.

3.3 Subjek Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi adalah suatu wilayah generalisasi yang terdiri atas obyek atau subyek yang mempunyai kualitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan

oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya (Sugiyono, 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

Adapun kriteria inklusi yang digunakan dalam pemilihan sampel Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* pada penelitian ini adalah :

- a Berat badan normal pada kisaran 250-300 gram.
- b Usia 2-3 bulan sebelum dilakukan adaptasi.
- c Pada pengamatan visual tampak sehat, bergerak aktif, dan tidak terdapat kelainan anatomis.
- d Tikus dengan luka bakar derajat II.

3.3.1.2 Kriteria Eksklusi

Adapun kriteria eklusi yang digunakan dalam pemilihan sampel Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* pada penelitian ini adalah :

- a. Memiliki kelainan pada bagian kulit.
- b. Terdapat penurunan berat badan secara drastis lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium.
- c. Mati selama masa perlakuan.
- d. Tikus dengan luka bakar bukan derajat II.

3.3.2 Sampel Penelitian

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

Pada penelitian ini besar sampel dihitung menggunakan rumus Federer untuk data homogen, yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$, dimana t adalah banyaknya kelompok perlakuan dan n adalah jumlah sampel tiap kelompok (Sastroasmoro, 2014). Penelitian ini menggunakan 3 kelompok perlakuan yang terdiri dari : (1) kelompok kontrol negatif (K) yang tidak diberi perlakuan, (2) kelompok perlakuan 1 (P1) yang diberi perlakuan pemberian gel bioplacenton, dan (3) kelompok perlakuan 2 (P2) yang diberi perlakuan pemberian ekstrak sel punca mesenkimal *Wharton's Jelly* tali pusat manusia secara topikal 1x sehari, sehingga jumlah sampel yang dibutuhkan adalah :

$$\begin{array}{ll} (t-1)(n-1) & \geq 15 \\ (3-1)(n-1) & \geq 15 \\ 2(n-1) & \geq 15 \\ 2n-2 & \geq 15 \\ 2n & \geq 17 \\ n & \geq 8.5 \end{array}$$

Berdasarkan rumus tersebut, jumlah minimal sampel yang dibutuhkan untuk masing-masing kelompok perlakuan pada penelitian ini adalah 9 ekor tikus sehingga jumlah sampel minimal yang dibutuhkan untuk 3 kelompok perlakuan adalah 27 ekor tikus. Kemudian untuk mengantisipasi adanya *drop out* saat penelitian dilakukan maka ditambahkan 10% ke dalam jumlah minimal sampel sehingga setiap kelompok perlakuan terdiri atas 10 ekor tikus. Pembagian sampel ke dalam tiga kelompok perlakuan dilakukan melalui mekanisme pemilihan secara acak.

3.3.2.2 Teknik Sampling

Sampling adalah strategi yang digunakan untuk memilih elemen dari populasi untuk diteliti (Swarjana, 2012). Pada penelitian ini pengambilan sampel dari populasi dilakukan dengan teknik *probability sampling* dimana semua anggota populasi memiliki peluang yang sama untuk dijadikan sampel. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *simple random sampling* dimana pengambilan sampel dilakukan secara acak sederhana karena anggota populasi tikus putih jantan disediakan dengan cara yang sama dan memiliki karakteristik yang homogen.

3.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian ekperimental laboratorium dengan menggunakan hewan coba tikus putih jantan (*Rattus norwegicus*) galur *Sprague dawley* sebagai objek penelitian. Penelitian dilakukan dengan rancangan penelitian *randomize only control group*. Pada objek diamati perbedaan tanda klinis luka bakar derajat II antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal *Wharton's Jelly* tali pusat manusia dengan gel Bioplacenton.

3.5 Identifikasi Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah sediaan topikal ekstrak sel punca mesenkimal dari *Wharton's Jelly* tali pusat manusia dan gel Bioplacenton.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kecepatan penyembuhan luka bakar derajat II pada tikus putih jantan (*Rattus norwegicus*) galur *Sprague dawley* dengan mengamati dua parameter yaitu waktu penyembuhan dan penyusutan diameter luka bakar derajat II.

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	WJMSCs	Sel punca mesenkimal yang diekstraksi dari <i>Wharton's Jelly</i> tali pusat manusia yang dibuat di Laboratorium Biologi Molekuler FK Unila dioleskan secara topikal 1 kali sehari sebanyak 0.02 ml	Lembar Observasi	Hasil pengamatan dicatat dalam lembar observasi	Diberi / tidak diberi	Nominal
2	Gel Biplacenton	Gel bioplacenton yang mengandung ekstrak plasenta <i>ex bovine</i> 10% dan neomisin sulfat 0.5% yang diproduksi oleh kalbe farma. Pemakaian dengan cara dioleskan secara topikal 1 kali sehari sebanyak 0.02 ml	Lembar Observasi	Hasil pengamatan dicatat dalam lembar observasi	Diberi / Tidak diberi	Nominal
3	Kontrol negatif	Tikus yang telah diinduksi luka bakar dan tidak diberi perlakuan pengobatan sebagai kelompok kontrol negatif	Lembar Observasi	Hasil pengamatan dicatat dalam lembar observasi	Tidak diberi perlakuan	Nominal
Variabel Terikat						
1	Waktu Penyembuhan	Waktu yang dibutuhkan untuk melakukan perbaikan jaringan; ditandai dengan permukaan yang bersih, sedikit granulasi, dan tidak ada jaringan yang hilang.	Lembar Observasi	Hasil pengamatan dicatat dalam lembar observasi	Hari	Numerik
2	Penyusutan Diameter luka	Besarnya penutupan diameter luka yang diukur dari tepi luka dan dinyatakan dalam persen $\% \text{ Penutupan luka} = \frac{D_0 - D_n}{D_0} 100\%$ Do = Diameter luka awal Dn = Diameter luka hari ke-n	Jangka Sorong	Hasil Pengamatan dicatat dalam lembar observasi	Persen	Numerik

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 dan tipnya.
- g. Inkubator.
- h. *Quick-dna Universal Kit (Zymo-Spin IIC-XL Column)*.
- i. Tabung mikrosentrifugasi.
- j. Kasa Steril.
- k. Spuit dan jarum.
- l. *Handschoen*.
- m. Jangka Sorong.
- n. *Biological safety cabinet*.

3.7.2 Bahan Penelitian

- a. Pakan dan minum tikus.
- b. Larutan *polyvinylpyrolidone iodine 1%*.
- c. Tali pusat manusia.
- d. Larutan *buffer* garam fosfat.
- e. *Quick-DNA Universal Kit (Solit Tissue Buffer, Proteinase K, Genomic Binding Buffer, DNA-Pre Wash Buffer, DNA-Pre Wash Buffer, g-DNA Wash Buffer, dan DNA Elution Buffer)*.

- f. Larutan anestesi *Lidokain 0,05%*.
- g. Gel Biplacenton.

3.8. Cara Kerja

3.8.1. Tahap Persiapan

3.8.1.1 Aklimatisasi Hewan Uji

Aklimatisasi adalah suatu proses penyesuaian diri dengan iklim, lingkungan, kondisi, atau suasana baru. Sebelum diberi perlakuan pada tikus percobaan, dilakukan pengadaptasian pada semua tikus di *Pet House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung selama satu minggu. Tikus diadaptasikan dengan tempat tinggal baru, lingkungan baru, serta makanan dan minuman yang sesuai dengan standar kebutuhannya.

3.8.1.2 Randomisasi Hewan Uji

Randomisasi hewan uji bertujuan untuk mengelompokkan hewan uji sesuai kelompok perlakuan. Selanjutnya pada bagian punggung dari masing-masing hewan uji akan diberi nomor yang berbeda. Hal ini bertujuan untuk menghindari kesalahan pengukuran pada setiap hewan uji.

Tabel 3. Pengaturan Randomisasi Hewan Uji

K	Kelompok Penelitian	
	P1	P2
K1	P1.1	P2.1
K2	P1.2	P2.2
K3	P2.3	P3.3
K4	P3.4	P5.4
K5	P5.5	P6.5
K6	P6.6	P7.6
K7	P7.7	P8.7
K8	P8.8	P9.8
K9	P9.9	P9.9

3.8.1.3 Pembuatan Ekstrak Sel Punca Mesenkimal

Penelitian dilakukan setelah mendapatkan persetujuan *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Tali pusat didapatkan dari donor sukarela yang akan menandatangani lembar *informed consent* dan disaksikan oleh seorang ahli. Tali pusat yang digunakan berasal dari ibu yang tidak melahirkan janin mati, tidak mengalami *pre-eclamsia*, tidak memiliki riwayat hepatitis B, hepatitis C, HIV, infeksi *Cytomegalovirus*, infeksi *Treponema pallidum*, serta riwayat infeksi lain yang dapat ditularkan melalui darah, sawar plasenta, dan genital (Puranik *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2015). Tali pusat diproses selama 12-24 jam pasca proses melahirkan (Mennan *et al.*, 2013).

Setelah proses kelahiran bayi, tali pusat disimpan dalam wadah steril yang berisi larutan *normal saline 0.09%* dalam suhu 4°C

sampai ekstraksi dilakukan. Selama proses pembuatan ekstrak sel punca mesenkimal, tali pusat ditangani secara aseptis di dalam *biological safety cabinet*. Tali pusat dibersihkan dengan menggunakan larutan *sterile phosphate buffered saline* (PBS) sebanyak tiga kali untuk membebaskan tali pusat dari darah yang menempel selama proses kelahiran. Setelah itu rendam tali pusat dalam larutan *ethanol 70%* selama 30 detik kemudian dicuci kembali menggunakan PBS untuk diproses ke tahap selanjutnya (Puranik *et al.*, 2012; Mennan *et al.*, 2013).

Ekstrak sel punca mesenkimal dibuat dengan cara mengekstraksi *Wharton's Jelly* tali pusat manusia menggunakan *Quick-DNA Universal Kit D4068I* produksi Zymo Research. Protokol ekstraksi yang digunakan adalah protokol ekstraksi DNA *Solid Tissue Samples*. Sebelum memulai ekstraksi, reagen dibuat dengan mencampurkan 20 mg *Proteinase K* dan 1060 μ l *Proteinase K Storage Buffer* kemudian vortex sampai larutan homogen. Setelah itu reagen disimpan dalam suhu $\leq -20^{\circ}\text{C}$. Sampel jaringan disiapkan dengan memotong tali pusat dengan berat ≤ 25 mg yang ditimbang menggunakan timbangan digital. Setelah itu sampel dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifugasi steril 95 μ l akuades, 95 μ l *solid tissues buffer*, dan 10 μ l *Proteinase K* lalu putar menggunakan vortex selama 10-15 detik. Setelah itu inkubasi *lysate* dalam *water bath* pada suhu 55°C selama 1-3 jam sampai sampel larutan menjadi

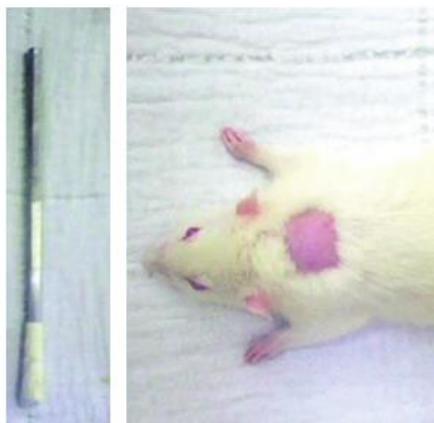
homogen. Kemudian sentrifugasi *lysate* dengan kecepatan 12.440 rpm untuk menghilangkan debris. Pindahkan supernatan ke tabung mikrosentifugasi yang baru dan tambahkan 400 μ l *Genomic Binding Buffer*, vortex selama 10-15 detik, kemudian pindahkan larutan tersebut ke *Zymo-SpinTM Column*, dan sentrifugasi dengan kecepatan 12.440 rpm selama 1 menit.

Setelah itu buang larutan yang ada pada *collection tube* dan tambahkan 400 μ l *DNA Pre-Wash Buffer* ke dalam *Zymo-SpinTM Column* lalu sentrifugasi dengan kecepatan 12.240 rpm selama 1 menit, kemudian dengan cara yang sama seperti sebelumnya, buang larutan yang terdapat pada *collection tube* dan tambahkan 700 *g-DNA Wash Buffer* ke dalam *Zymo-SpinTM Column* lalu sentrifugasi dengan kecepatan selama 12.440 rpm selama 1 menit. Setelah itu buang kembali larutan yang terdapat dalam *collection tube* dan tambahkan 200 μ l *g-DNA Wash Buffer* ke dalam *Zymo-SpinTM Column* lalu sentrifugasi dengan kecepatan 12.440 rpm selama 1 menit. Buang larutan yang ada pada *collection tube* dan ganti *collection tube* menggunakan tabung sentrifugasi baru, kemudian tambahkan ≥ 50 μ l *DNA Elution Buffer* dan inkubasi selama 5 menit dalam suhu ruangan, setelah itu sentrifugasi dengan kecepatan maksimal selama 1 menit. Simpan hasil ekstraksi dalam suhu ruangan $\leq -20^{\circ}\text{C}$ sampai ekstrak akan digunakan (Zymo Research, 2017).

3.8.2 Tahap Pengujian

3.8.2.1 Pembuatan Luka Bakar

Sebelum pembuatan luka bakar pada tikus dilakukan, daerah yang akan dibuat perlukaan dibebaskan terlebih dahulu dari bulu menggunakan pisau cukur. Setelah itu, lakukan anestesi dengan menggunakan *Lidokaine 0,5%* dengan dosis 7 mg/kgBB subkutan untuk mengurangi rasa sakit pada tikus dan menghindari gerakan tikus yang berlebihan (IACUC, 2017). Setelah itu lakukan prosedur antiseptik dengan mengoleskan *polyvinylpyrolidone iodine 1%* pada area yang akan dibuat perlukaan yaitu bagian proksimal punggung tikus. Luka bakar dibuat menggunakan batang logam aluminium dengan diameter 24 mm. Logam dipanaskan dalam air mendidih dengan suhu 100°C lalu ditempelkan pada daerah yang sudah dibersihkan selama 15 detik (Tavares *et al.*, 2012).



Gambar 7. Luka Bakar Derajat II Pada Hewan Coba.

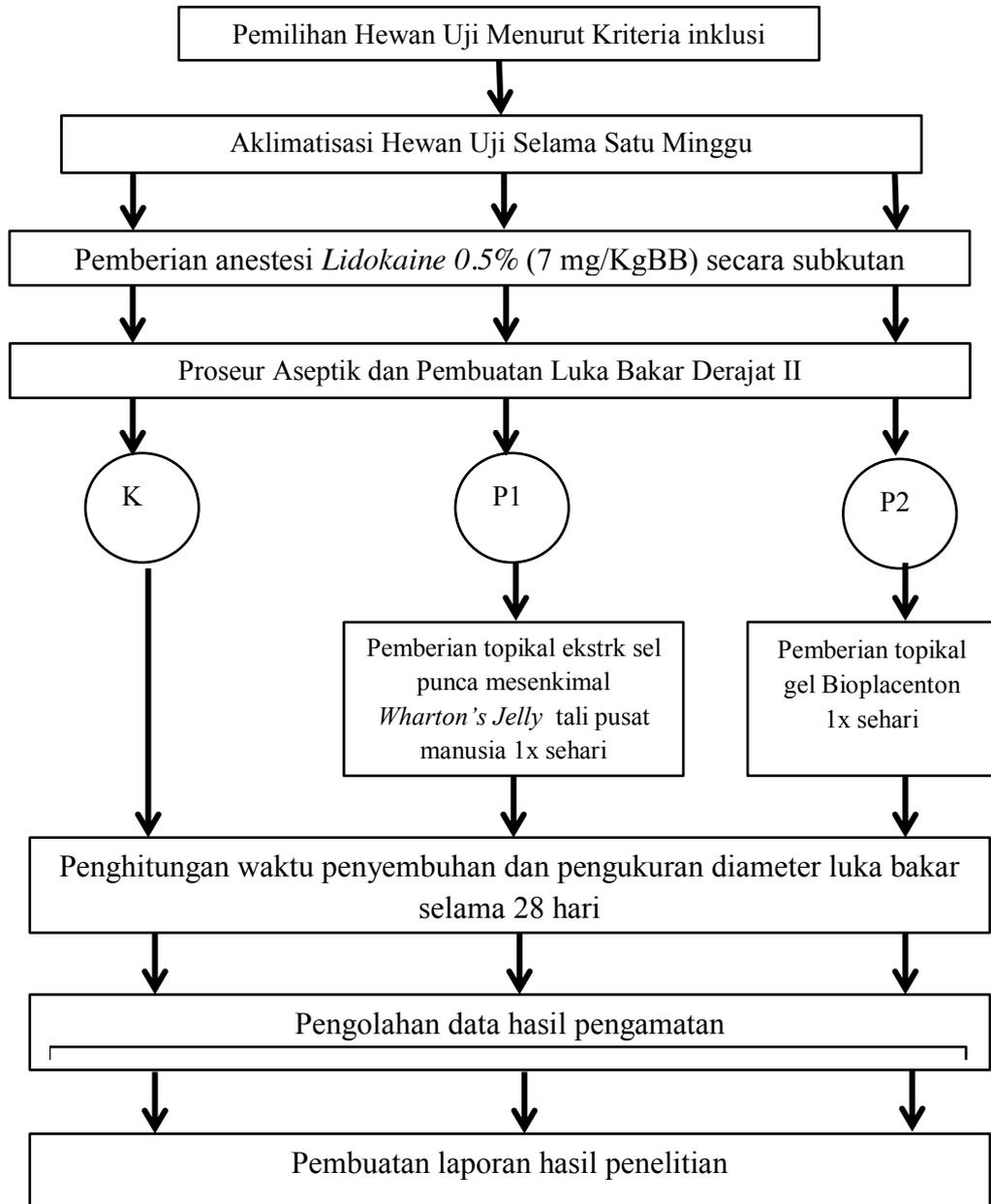
3.8.2.2 Penanganan Luka Bakar

Setelah luka bakar selesai dibuat pada badan tikus, selanjutnya perawatan luka bakar disesuaikan dengan kelompok perlakuan yang sudah ditentukan. Luka bakar pada kontrol (K) tidak diberikan perlakuan apapun, sedangkan pada kelompok perlakuan (P1) luka bakar diolesi dengan gel Bioplacenton, dan kelompok perlakuan (P2) diolesi dengan ekstrak sel punca mesenkimal *Wharton's Jelly* tali pusat manusia sampai menutupi seluruh permukaan luka bakar. Perawatan luka bakar tersebut dilakukan sebanyak 1 kali sehari selama 28 hari sesuai dengan lama proses normal penyembuhan luka bakar derajat II dan proses regenerasi kulit (Tavares *et al.*, 2012; Mescher, 2016).

3.8.2.3 Penilaian Kecepatan Penyembuhan Luka Bakar Derajat II

Penilaian kecepatan luka bakar derajat II pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* akan dilakukan selama 28 hari dengan menghitung waktu penyembuhan dan mengukur diameter luka bakar. Setelah pengukuran selesai akan dilakukan perbandingan rata-rata kecepatan penyembuhan luka bakar derajat II pada masing-masing kelompok penelitian menggunakan *software* statistik pengolah data.

3.9. Alur Penelitian



Gambar 8. Alur Penelitian.

3.10 Pengolahan dan Analisis Data

3.10.1 Pengolahan Data

Data yang didapatkan dari proses pengumpulan data akan diubah ke dalam bentuk tabel untuk kemudian diolah menggunakan program pengolahan data statistik. Proses pengolahan data menggunakan komputer ini terdiri dari beberapa langkah (Notoatmodjo, 2015):

- a) *Editing*, pengecekan dan perbaikan isian formulir atau kuesioner.
- b) *Coding*, proses konversi data yang dikumpulkan selama penelitian ke dalam simbol yang sesuai untuk keperluan analisis.
- c) *Data entry*, memasukkan data ke dalam program komputer.
- d) *Cleaning*, pengecekan ulang data dari setiap sumber data atau responden untuk melihat kemungkinan adanya kesalahan kode, ketidaklengkapan, dan kemudian dilakukan koreksi.
- e) *Output computer*.

3.10.2 Analisis Data

Pada penelitian ini akan dilakukan dua kali uji statistik yaitu analisis univariat untuk mengetahui karakteristik tiap variabel dan analisis bivariat untuk mengetahui hubungan antarvariabel penelitian.

a) Analisis Univariat

Analisis univariat merupakan analisis yang digunakan untuk mendeskripsikan karakteristik suatu variabel penelitian. Pada analisis univariat terdapat dua macam ukuran data yaitu ukuran

pemusatan dan ukuran penyebaran. Untuk data numerik apabila data terdistribusi secara normal maka ukuran pemusatan yang digunakan adalah *mean* dan ukuran penyebarannya adalah standar deviasi. Apabila data tidak terdistribusi normal maka ukuran pemusatan yang digunakan adalah *modus* dan ukuran penyebarannya adalah persentil (Dahlan, 2014).

b) Analisis Bivariat

Setelah dilakukan analisis univariat kemudian dilanjutkan dengan analisis bivariat untuk mencari hubungan antarvariabel penelitian. Untuk menentukan uji statistik bivariat yang akan digunakan maka sebelumnya dilakukan uji normalitas data untuk melihat distribusi data penelitian. Lalu lakukan transformasi bila sebaran data tidak normal. Dalam penelitian ini total sampel yang digunakan pada semua kelompok penelitian adalah 30 sampel, sehingga uji normalitas data yang digunakan adalah uji *Saphir-Wilk* untuk jumlah data ≤ 50 (Dahlan, 2014).

Penelitian ini terdiri atas tiga variabel bebas dan satu variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini merupakan data dengan skala kategorik dan variabel terikatnya merupakan data dengan skala numerik, sehingga uji statistik yang digunakan adalah uji statistik One way ANOVA untuk mencari mencari perbedaan rata-rata hasil pengukuran lebih dari dua kelompok kategorik tidak berpasangan. Setelah itu dilakukan uji homogenitas data, apabila data tersebar normal dengan varian yang sama gunakan

post hoc Bonferroni atau gunakan *post hoc* Tamhane's, apabila data berdistribusi normal dengan varian yang berbeda. Jika tidak memenuhi syarat uji parametrik (data terdistribusi tidak normal), maka akan dilakukan analisis data menggunakan uji statistik non parametrik *Kruskal-Wallis* dengan *post hoc* *Mann-Whitney* (Dahlan, 2014).

3.11 Kaji Etik

Penelitian ini telah lolos uji kaji etik oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan menerapkan prinsip 3R yaitu *replacement*, *reduction*, dan *refinement* dengan nomor persetujuan etik 077/UN26.8/DL/201.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Dari hasil penelitian perbedaan kecepatan penyembuhan luka bakar derajat II antara pemberian sel punca mesenkimal *Wharton's Jelly* tali pusat manusia dengan gel bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*, didapatkan simpulan sebagai berikut :

1. Terdapat perbedaan rerata waktu penyembuhan luka bakar derajat II antara pemberian topikal sel punca mesenkimal *Wharton's Jelly* tali pusat manusia dengan gel bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.
2. Terdapat perbedaan penyusutan diameter luka bakar derajat II antara pemberian topikal sel punca mesenkimal *Wharton's Jelly* tali pusat manusia dengan gel bioplacenton pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*. Perbedaan terjadi pada hari ke-8, 12, 16, 18, dan 20.

5.2 Saran

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

1. Diharapkan penelitian selanjutnya dapat melanjutkan penelitian menggunakan hewan coba yang berbeda sesuai dengan kaidah penelitian.
2. Diharapkan hasil penelitian ini dapat menjadi dasar bagi penelitian selanjutnya mengenai pengaruh pemberian sel punca mesenkimal *Wharton's Jelly* tali pusat manusia terhadap kondisi patologis lainnya yang membutuhkan regimen terapi yang dapat mempercepat proses regenerasi jaringan.
3. Diharapkan peneliti selanjutnya dapat memperhatikan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi penelitian agar hasil penelitian yang diperoleh terhindar dari bias.
4. Diharapkan penelitian selanjutnya dapat melakukan proses isolasi sel punca mesenkimal dengan cara kultur sel dan melakukan analisis *flowcytometry* pada sel punca yang telah diisolasi.
5. Bagi Universitas Lampung, diharapkan dapat meningkatkan ketertarikan dan mengembangkan prasarana untuk penelitian mengenai sel punca sebagai terapi regeneratif.

DAFTAR PUSTAKA

- ABA, 2009. Surgical management of the burn wound and the use of skin substitutes. American Burn Association White Paper [Online Journal] [Diunduh tanggal 24 September 2017]. Tersedia dari: www.ameriburn.or
- Abdel Hamid AA, Soliman MF. 2015. Effect of topical aloe vera on the process of healing of full-thickness skin burn: a histological and immunohistochemical study. *Journal of Histology & Histopathology*. 2(1):1–9.
- Arno AI, Amini-Nik S, Blit PH, Al-Shehab M, Belo C, Heerer E et al. 2014. Human wharton's jelly mesenchymal stem cells promote skin wound healing through paracrine signaling. *stemcellres*. 5(28)1–13.
- Brunner, Suddarth. 2010. Textbook of medical surgical nursing. Edisi ke-1. USA: Lippincott.
- 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. *stemcellres*. 6(1):1-7.
- Dahlan, MS. 2014. Uji hipotesis komparatif kategorik tidak berpasangan. Dalam: Statistik untuk kedokteran dan kesehatan. Jakarta: Epidemiologi Indonesia.
- Erosschenko V. 2010. Sistem Integumen. Dalam: Atlas Histologi diFiore. hlm: 223–46.
- Genetic Home Reference. 2017. Gen Therapy. National Institute of Health [Online Journal] [Diunduh tanggal 24 September 2017]. Tersedia dari: <https://ghr.nlm.nih.gov/primer/therapy/genetherapy>.

- Guo S, Dipietro LA. 2010. Factors affecting wound healing. *J Dent Res* 89(3):219-229.
- IACUC. 2017. Anesthesia and analgesia in laboratory animals at ucsf. University of California San Fransisco [Online Journal] [Diunduh tanggal 24 September 2017]. Tersedia dari: <http://www.iacuc.ucsf.edu/Proc/awRatFrm.asp>
- Janvier. 2017. Sprague dawley rat. Janvier. Tersedia di : <https://www.janvier-labs.com/rodent-research-models-services/research-models/per-species/outbred-rats/product/sprague-dawley.html>. (Diakses pada: 14 April 2017).
- Kamolz L, Keck M, Kasper C. 2014. Wharton's jelly mesenchymal stem cells promote wound healing and tissue regeneration. *Stemcellres*. 5(62):1-2.
- Kementan RI, 2008. Petunjuk teknis rodensia. Kementan RI. hlm 25-42.
- Koolhas JM. 2010. The laboratory rat. *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals*. University of Gronigen. hlm 311-15.
- Leaper DJ, Harding KG, 1998. *Wounds: biology and management*. Oxford University Press.
- Mennan C, Wright K, Bhattacharjee A, Balain B, Richardson J, Roberrts S. 2013. Isolation and characterisation of mesenchymal stem cells from different regions of the human umbilical cord. *Hindawi*. 2013(916136): 1-8.
- Mesche AL. 2016. Sistem Integumen. Dalam: *Teks dan Atlas Histologi Dasar Junquiera*. hlm 309–24.
- MIMS. 2017. Bioplacenton. MIMS [Online Journal] [Diunduh tanggal 25 Juli 2017]. Tersedia dari; <http://www.mims.com/indonesia/drug/info/bioplacenton>
- Nagamura IT, He H. 2014. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells: their advantages and potential clinical utility. *WJSC*. 6(2):195–202.
- Notoatmodjo S. 2015. *Metodologi penelitian kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.

- Padeta I, Nugroho WS, Kusindarta DW, Fibrianto YH, Budipitojo T. 2017. Research article mesenchymal stem cell-conditioned medium promote the recovery of skin burn wound. *Asian J.Anim.* 12(3):132–41.
- Price R, Myers S, Leigh IM, Navsaria HA. 2005. The role of hyaluronic acid in wound healing assessment of clinical evidence. 6(6):393–402.
- Puranik SB, Nagesh A, Guttedar RS. 2012. Isolation of mesenchymal-like cells from wharton's jelly of umbilical cord. *Ijpcbs.* 2(3):218–24.
- Rose LF, Chan RK. 2016. The burn wound microenvironment. *WHS.* 5(3):106–18.
- Rowan MP. 2015. Burn wound healing and treatment: review and advancements. *Biomed Central.* 19(1):243-54.
- Sasaki M, Abe R, Fujita Y, Ando S, Inokuma D, Shimizu H. 2008. Mesenchymal stem cells are recruited into wounded skin and contribute to wound repair by transdifferentiation into multiple skin cell type. *Jimmunol.* 180:2581-2587.
- Sastroasmoro S. 2014. *Dasar-dasar metodologi penelitian. Edisi ke- 5.* Jakarta: Sagung Seto.
- Schmauss D, Rezaeian F, Finck T, Machens HG, Wettstein R, Harder Y. 2013. Treatment of secondary burn wound progression in contact burns - a systematic review of experimental approaches. *Journal of Burn Care and Research.* 36(3): 176–189.
- Singer AJ, Taira, BR, Lee CC. 2014. Thermal burns. Dalam: *Rosen's emergency medicine - concepts and clinical practice.* Elsevier Inc. hlm: 808-817.
- Sinno H, Prakash S. 2013. Complements and the wound healing cascade: an updated review. *Hindawi.* 2013(46764)1-7.
- Sjamsuhidajat K, Warko P, Theddeus OH, Rudiman, Reno 2010. *Buku Ajar Ilmu Bedah. Edisi ke-3.* Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Taghizadeh RR, Cetrulo KJ. 2011. Wharton's Jelly stem cells: future clinical applications. *Elsevier inc.* 32(2011):311–15.

- Tavares DDS, Madruga MH, Pontes NT, Anjos AM, Santos MT. 2012. Development of animal model for studying deep second-degree thermal burns. *Hindawi*. 2012(460841): 1-7.
- The National Academi. 2011. Understanding stem cell. *national academies*. hlm. 3-19.
- Djauhari T. 2010. Sel Punca. *Jurnal Saintika Medika*. 6(13); 91–96..
- Tortora GJ, Derrickson B. 2012. The intugumentary system. Dalam: *principles of anatomy and physiology*. United States of America: John Wiley & Sons. hlm: 153–181.
- Vinay Kumar, Abul KA. 2015. Radang dan pemulihan jaringan. Dalam: *Buku Ajar Patologi Robbins*. Jakarta: Elsevier. hlm: 29-74.
- Wang HS, Hung SC, Peng ST, Huang CC, Wei HM, Guo YJ et al. 2004. Mesenchymal stem cells in the wharton's jelly of the human umbilical cord. *Stemcells*. 22(7): 1330–1337.
- Wang HS, Xu C, Zhao RC. 2012. Clinical applications of mesenchymal stem cells. *Jhoonline*. 5(19): 1-9.
- Watt FM, Driskell RR. 2010. The therapeutic potential of stem cells. *Philosophical Transactions Of The Royal Society Of London. Series B Biological Sciences*. 365(1537): 155–163.
- WHO. 2017. Burns. World Health Organization. [Diunduh tanggal 25 Juli 2017]. Tersedia dari: http://www.who.int/violence_injury_prevention/other_injury/burns
- Widiartini W, Siswati E, Setiyawati A, Rohmah IM, Prastyo E. 2013. Pengembangan usaha produksi tikus putih (*Rattus Norvegicus*) dalam upaya memenuhi kebutuhan dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratoris. *Kemenristekdikti*.
- Zymo Research. 2017. Quick -DNA™ Universal kit manual instruction. [Diunduh tanggal 25 Juli 2017]. Tersedia dari: <http://www.zymoresearch.com/dna>.