

**PERBEDAAN EPITEL DAN KOLAGEN PADA LUKA BAKAR DERAJAT
II ANTARA PEMBERIAN EKSTRAK SEL PUNCA MESENKIMAL TALI
PUSAT MANUSIA DENGAN SILER SULFADIAZINE PADA TIKUS
PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley***

(Skripsi)

**Oleh
NI MADE ARIYULIAMI SAVITRI**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

**PERBEDAAN EPITEL DAN KOLAGEN PADA LUKA BAKAR DERAJAT
II ANTARA PEMBERIAN EKSTRAK SEL PUNCA MESENKIMAL TALI
PUSAT MANUSIA DENGAN SILVER SULFADIAZINE PADA TIKUS
PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley***

Oleh
NI MADE ARIYULIAMI SAVITRI

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

**Pada
Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran**



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

ABSTRACT

THE DIFFERENCE OF EPITHELIUM AND COLLAGEN FORMATION IN SECOND DEGREE BURN WOUND HEALING BETWEEN HUMAN UMBILICAL CORD MESENCHYMAL STEM CELL EXTRACT AND SILVER SULFADIAZINE TREATMEN IN WHITE MALE SPRAGUE DAWLEY RATS (*Rattus norvegicus*)

By

NI MADE ARIYULIAMI SAVITRI

Background: silver sulfadiazine is a gold standard in the treatment of topical healing of burns. Currently, other therapies have been developed to help wound healing process, including using human stem cell mesenchymal stem extract because stem cells can accelerate the formation of epithelium and collagen, thus accelerating the wound healing process.

Method: This study used 27 male white rats Sprague dawley divided into 9 groups of treatment group K4, K14, and K28 were the control group, SC4 group, SC14, and SC28 were the group given stem cell extract therapy, and group of SSD4, SSD14, and SSD28 was the group given silver sulfadiazine therapy. On the 4th day, 14th, and 28th rats euthanasia was performed for the skin and the preparations were made with hematoxylin-eosin staining and the formation of epithelium and collagen with 40x magnification

Results: The mean score of re-epithelialization on the 28th day was group K28:5,33, SC:7,67,SSD28:8. Mean score of collagen formation on day 14 of group K14:6,67, SC14: 8,67, SSD14: 8. Mean score of collagen formation on day 28 of group K28:5, SC28:4, SSD28:3,67

Conclusion: there were significant differences re-epithelialization on day 28 and collagen formation on day 14 and 28.

Keywords: Burn injury, silver sulfadiazine, mesenchymal stem cell, epithelium, collagen

ABSTRAK

PERBEDAAN EPITEL DAN KOLAGEN PADA LUKA BAKAR DERAJAT II ANTARA PEMBERIAN EKSTRAK SEL PUNCA MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA DENGAN SILVER SULFADIAZINE PADA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley*

Oleh

NI MADE ARIYULIAMI SAVITRI

Latar Belakang: Silver sulfadiazine merupakan standar baku emas dalam terapi topikal penyembuhan luka bakar. Saat ini telah dikembangkan terapi lain untuk membantu proses penyembuhan luka, diantaranya menggunakan ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia karena sel punca dapat mempercepat pembentukan epitel dan kolagen sehingga mempercepat proses penyembuhan luka.

Metode: Penelitian ini menggunakan 27 ekor tikus putih jantan galur *Sprague dawley* yang dibagi 9 kelompok perlakuan kelompok K4, K14, dan K28 merupakan kelompok kontrol, kelompok SC4, SC14, dan SC28 merupakan kelompok yang diberikan terapi ekstrak sel punca, dan kelompok SSD4, SSD14, dan SSD28 merupakan kelompok yang diberikan terapi silver sulfadiazine. Pada hari ke-4, 14, dan 28 tikus dilakukan eutanasia untuk diambil kulitnya dan dilakukan pembuatan preparat dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin* dan dilihat pembentukan epitel dan kolagennya dengan perbesaran 40x

Hasil: Rata-rata skor epitelisasi hari ke-28 K28:5,33, SC:7,67,SSD28:8. Rata-rata skor kolagen hari ke-14 K14:6,67, SC14: 8,67, SSD14: 8. Rata-rata skor kolagen hari ke-28 K28:5, SC28:4, SSD28:3,67

Kesimpulan: Terdapat perbedaan bermakna ketebalan epitel pada hari ke-28 dan jumlah kolagen hari ke-14 dan 28

Kata Kunci: luka bakar, silver sulfadiazine, sel punca mesenkimal, epitel, kolagen

Judul Proposal Penelitian : **PERBEDAAN EPITEL DAN KOLAGEN PADA LUKA BAKAR DERAJAT II ANTARA PEMBERIAN EKSTRAK SEL PUNCA MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA DENGAN SILVER SULFADIAZINE PADA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley***

Nama Mahasiswa : Ni Made Ariyuliami Savitri

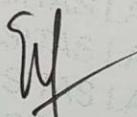
No.Pokok Mahasiswa : 1418011148

Program Studi : Pendidikan Dokter

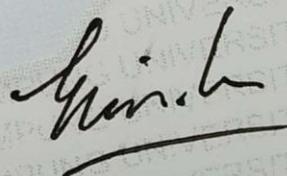
Fakultas : Kedokteran

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing



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



Prof. Dr. dr. Efrida Warganegara,
S.Ked., M.Kes., Sp.MK
19501223 197710 2 001

MENGETAHUI

2. Dekan Fakultas Kedokteran

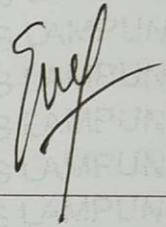


Dr. dr. Muhartono, S.Ked, M.Kes, Sp.PA
NIP 19701208 200112 1 001

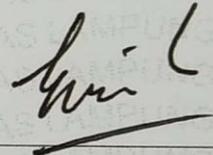
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

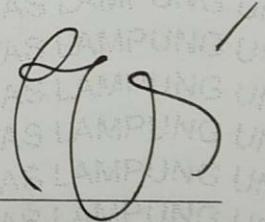
Ketua : **dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc**



Sekretaris : **Prof. Dr.dr. Efrida Warganegara,
S.Ked., M.Kes., Sp.MK**



Penguji
Bukan
Pembimbing : **dr. Dwi Indria Anggraini, S.Ked.,
M.Sc., Sp.KK**



2. Dekan Fakultas Kedokteran



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **1 Februari 2018**

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa :

1. Skripsi dengan judul **“PERBEDAAN EPITEL DAN KOLAGEN PADA LUKA BAKAR DERAJAT II ANTARA PEMBERIAN EKSTRAK SEL PUNCA MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA DENGAN SILVER SULFADIAZINE PADA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley*”** adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarisme
2. Hal intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung

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

Bandarlampung, Februari 2018
Pembuat Pernyataan,



Ni Made Ariyuliami Savitri

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Kota Metro, pada tanggal 27 Juli 1996. Penulis merupakan putri kedua dari 3 bersaudara, dari Ayahanda Made Suwirte, S.Pd dan Nengah Suratmi S.Pd.

Penulis menempuh pendidikannya di Taman Kanak-Kanak Xaverius Seputih Banyak diselesaikan pada tahun 2002, Sekolah Dasar diselesaikan di SDN 1 Swastika Buana pada tahun 2008, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMPN 1 Rumbia pada tahun 2011, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMAN 1 Seputih Banyak pada tahun 2014.

Pada tahun 2014, penulis diterima sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif dalam lembaga kemahasiswaan Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) sebagai staff bidang Pengembangan Sumber Daya Manusia dan Organisasi (PSDMO) serta aktif dalam Perhimpunan Mahasiswa Pencinta Alam Tanggap Darurat (PMPATD) Pakis Rescue Team sebagai devisi Organisasi, selain itu penulis juga aktif dalam Unit Kegiatan Mahasiswa(UKM) Hindu Unila dibidang Organisasi dan Kaderisasi.

*Sebuah persembahan sederhana untuk mama,
papa, kakak, dan adik tercinta yang selalu
memberiku motivasi dan selalu mendoakan
untuk kesuksesanku.
Terimakasih atas segalanya*

*“Disetiap kesukaran pasti akan selalu ada jalan, yang
terpenting selalu berusaha yang terbaik, semangat, dan terus
berdoa”*

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Ida Sang Hyang Widhi Wasa yang telah melimpahkan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.

Skripsi ini berjudul “ Perbedaan Epitel dan Kolagen pada Luka Bakar Derajat II Antara Pemberian Ekstrak Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia dengan Silver Sulfadiazine Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley*”

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapat masukan, bantuan, dorongan, saran, bimbingan dan kritik dari berbagai pihak. Maka pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati peneliti ingin menyampaikan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya 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;
3. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc selaku Pembimbing I yang telah meluangkan waktu untuk membantu, memberi kritik, saran dan membimbing dalam penyelesaian skripsi ini;

4. Prof. Dr. dr. Efrida Warganegara, S.Ked., M.Kes., Sp.MK selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu untuk membantu, memberi kritik, saran dan membimbing dalam penyelesaian skripsi ini;
5. dr. Dwi Indria Anggraini, S.Ked., M.Sc., Sp.KK selaku pembahas yang telah meluangkan waktu untuk membantu, memberikan kritik, saran dan membimbing dalam penyelesaian skripsi ini;
6. dr. Oktafany, S.Ked., M.Pd.Ked Sebagai Pembimbing Akademik yang telah memberikan arahan dan motivasi selama masa perkuliahan dan dalam penyusunan skripsi ini;
7. Ayahanda Made Suwirte, S.Pd dan Ibunda Nengah Suratmi, S.Pd, terimakasih atas doa, kasih sayang, bimbingan dan motivasi untuk memberikan semangat dalam penyusunan skripsi ini;
8. Kakak dan adik tercinta Ni Putu Lohita Milasari, Amd.Keb dan Ni Komang Devi Wiratningrum, terimakasih atas doa, kasih sayang, dan motivasi untuk memberikan semangat dalam penyusunan skripsi ini;
9. Seluruh Keluarga besar yang telah memberikan dukungan dan semangat dalam penyusunan skripsi ini ;
10. dr. Rizki Hanriko,S.Ked., Sp.PA dan mas bayu yang telah membantu dalam proses pembuatan dan pembacaan preparat;
11. Bu Nuriah dan Mbak Yani atas segala bantuan dan bimbingannya dalam pembuatan ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia;
12. Seluruh Staf Dosen FK Unila atas ilmu yang telah diberikan dalam menambah wawasan yang menjadi landasan untuk mencapai cita-cita;

13. Seluruh Staf Tata Usaha, Administrasi, Akademik, pegawai dan karyawan FK Unila yang telah membantu dalam kegiatan perkuliahan selama ini;
14. Natasha Naomi, Titik Herdawati, Niken Rahmatia, Luh Dina, dan Eka Lestari selaku rekan satu penelitian, tanpa kalian penulis tidak akan dapat menyelesaikan penelitian ini;
15. Sahabatku Ayu Indah, Gita Cahaya, Vinyssa Anindita, Nofia Dian, Rini Safitri, Entan Teram dan Atika Marcheria atas dorongan, motivasi, masukan yang telah diberikan selama perkuliahan ini;
16. Ananda Dharmaning Arta yang selalu membantu, menemani dan menghibur saya dalam proses belajar;
17. Teman-teman satu angkatan 2014 yang tidak bisa saya sebutkan satu-persatu atas kerjasama dan keceriaan yang telah diberikan selama ini;
18. Adik tingkat angkatan 2015, 2016, 2017 yang turut mengisi cerita dalam perkuliahan saya.

Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Akan tetapi, penulis berharap semoga skripsi yang sederhana ini dapat bermanfaat dan berguna bagi kita semua.

Bandarlampung, Februari 2018

Ni Made Ariyuliami Savitri

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi

BAB I PENDAHULUAN

1.1	Latar Belakang	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	Bagi Peneliti.....	5
1.4.2	Bagi Peneliti Lain	6
1.4.3	Bagi Masyarakat	6
1.4.4	Bagi Instansi Terkait	6

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1	Struktur dan Fungsi Kulit	7
2.1.1	Epidermis	8
2.1.2	Dermis.....	9
2.1.3	Subkutis.....	11
2.2	Luka Bakar	11
2.2.1	Definisi Luka Bakar	11
2.2.2	Klasifikasi Luka Bakar	11
2.2.3	Patofisiologi Luka Bakar	13
2.2.4	Proses Penyembuhan Luka Bakar.....	14
2.3	Silver Sulvadiazine.....	16
2.4	Sel Punca	17
2.4.1	Klasifikasi Sel Punca	18
2.5	Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia	20
2.6	Gambaran Umum Hewan Coba.....	22
2.6.1	Taksonomi.....	22
2.6.2	Biologi Tikus	22
2.6	Kerangka Teori.....	25

2.7	Kerangka Konsep	26
2.8	Hipotesis	26

BAB III METODE PENELITIAN

3.1	Jenis dan Rancangan Penelitian	27
3.2	Waktu dan Tempat Penelitian	27
3.3	Populasi dan Sampel	28
3.3.1	Populasi Penelitian.....	28
3.3.2	Sampel Penelitian.....	28
3.3.3	Teknik Sampling.....	29
3.3.4	Kelompok Perlakuan.....	29
3.3.5	Kriteria Inklusi	30
3.3.6	Kriteria Eksklusi	30
3.4	Identifikasi Variabel Penelitian	30
3.4.1	Variabel Bebas	30
3.4.2	Variabel Terikat	30
3.5	Definisi Operasional.....	31
3.6	Alat dan Bahan	32
3.6.1	Alat Penelitian.....	32
3.6.2	Bahan Penelitian	33
3.7	Prosedur Penelitian.....	33
3.7.1	Aklimatisasi Hewan Uji.....	33
3.7.2	Pembuatan Ekstrak Sel Punca Mesenkimal.....	34
3.7.3	Pembuatan Luka Bakar	36
3.7.4	Pemberian Terapi	37
3.7.5	Prosedur Operasional Pembuatan Slide.....	37
3.7.6	Penilaian Mikroskopis Luka Bakar.....	41
3.8	Alur Penelitian.....	43
3.9	Analisis Data	44
3.10	Kaji Etik	44

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Hasil Penelitian.....	45
4.1.1	Analisis Ketebalan Epitel.....	48
4.1.2	Analisis Jumlah Kolagen	52
4.2	Pembahasan	56
4.2.1	Pembahasan Pembentukan Epitel	56
4.2.2	Pembahasan Pembentukan Kolagen	59

BAB V SIMPULAN DAN SARAN

5.1	Simpulan.....	62
5.2	Saran	62

DAFTAR PUSTAKA	63
-----------------------------	-----------

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kelompok Perlakuan	29
2. Definisi Operasional.....	31
3. Hasil uji univariat dan bivariat.....	48
4. Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> epitel hari 28	50
5. Hasil uji univariat dan bivariat.....	52
6. Hasil analisis uji <i>Mann-Whitney</i> kolagen hari ke-28	55
7. Hasil Uji Pos Hoc Benfferoni	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka Teori.....	25
2. Kerangka Konsep	26
3. Alur Penelitian	43
4. Mikroskopis epitel dan kolagen	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Persetujuan Etik	69
2. Hasil Analisis Data	70
3. Penyembuhan secara makroskopis.....	80

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka bakar adalah suatu kerusakan jaringan yang disebabkan karena kontak dengan suhu yang sangat tinggi seperti api panas, bahan kimia, listrik, dan radiasi atau kontak dengan suhu yang sangat rendah (Moenadjat, 2009). Luka bakar 90% terjadi di Negara yang memiliki penghasilan rendah dan infrastruktur minim untuk mencegah terjadinya luka bakar (Vincy *et al.*, 2004). Pada tahun 2014, *World Health Organization* (WHO) memperkirakan terdapat lebih dari 265.000 kematian yang terjadi setiap tahunnya akibat luka bakar dan kebanyakan terjadi didaerah Afrika, Asia tenggara, dan Timur Tengah. Di Indonesia sendiri luka bakar berada diperingkat 6 dalam cedera yang tidak disengaja dengan total 0,7% dari seluruh cedera (Kementerian kesehatan, 2013)

Luka bakar merupakan masalah kesehatan yang serius, karena tidak hanya menyebabkan kerusakan secara lokal, tetapi luka bakar dapat menyebabkan terjadinya efek sistemik seperti syok dan dapat mengakibatkan *multi-system organ failure* (MOF) yang membutuhkan perawatan intensif (Tiwari, 2012; Rowan *et al.*, 2015)

Proses penyembuhan luka bakar dibagi menjadi 3 fase utama yang saling tumpang tindih satu sama lain yaitu diawali dengan fase peradangan yang dimulai dengan terjadinya peningkatan permeabilitas pembuluh darah dan migrasi sel radang, fase proliferasi ditandai dengan keratinosit yang bermigrasi ke area luka untuk membantu penutupan jaringan, fase maturasi merupakan fase terakhir yang dimulai dari hari ke 21 hingga sekitar 1 tahun (Tiwari, 2012).

Kulit merupakan organ utama yang terpapar dengan dunia luar. Kulit memiliki fungsi berupa fungsi proteksi, termoregulasi, metabolik, ekskresi, absorpsi, dan persepsi. Penyembuhan kulit menjadi hal penting karena ketika kulit kehilangan kontinuitasnya maka fungsi kulit tidak dapat berjalan seperti seharusnya (Mescher, 2012). Oleh karena itu, Penyembuhan luka bakar memerlukan manajemen dan pengobatan yang tepat agar luka tidak mengakibatkan kerusakan yang semakin parah.

Salah satu cara yang efektif untuk perawatan luka bakar adalah obat topikal, *Silver sulfadiazine* (SSD) merupakan obat pilihan pertama untuk pengobatan luka bakar, SSD adalah antibiotik topikal golongan sulfonamid yang memiliki sifat *broad spectrum* untuk mencegah terjadinya infeksi di daerah luka. SSD mampu menghasilkan waktu penyembuhan 8-15 hari untuk *superficial burn* dan 14-21 hari untuk *deep dermal burn* (Vincy et al., 2004)

Saat ini telah dikembangkan pengobatan dengan menggunakan sel punca (*stem cell*). Sel punca merupakan teknologi pengobatan terbaru dalam dunia kedokteran, banyak ilmuwan yang meneliti manfaat terapi sel punca, salah satunya dalam terapi penyembuhan kulit. Salah satu jenis sel punca yang dapat digunakan dalam terapi penyembuhan kulit adalah sel punca mesenkimal. Sel punca mesenkimal memiliki kemampuan yang baik dalam memodulasi respon inflamasi, mempercepat remodeling dari matriks ekstraseluler dengan merangsang peningkatan produksi dari kolagen, meningkatkan ketebalan dari epidermis melalui percepatan epitelisasi dan meningkatkan migrasi dari fibroblas dan keratinosit sehingga mempercepat penutupan dari luka. (Lee *et al.*, 2016)

Sel punca mesenkimal dapat diperoleh dari *wharton jelly* yang terdapat di dalam tali pusat dan darah pada placenta segera setelah bayi lahir (Djauhari, 2010; Kim *et al.*, 2013). Kelebihan dari sel punca ini adalah prosedur pengambilannya yang tidak invasif, tidak menggunakan bedah tambahan dan diambil dari jaringan yang terbuang (Arno *et al.*, 2014). Penelitian eksperimental pada tikus putih jantan mengenai pemberian ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap percepatan penyembuhan luka sayat yang dilakukan oleh (Nur, 2017) menunjukkan hasil yang bermakna, pada tikus yang dioleskan dengan topikal ekstrak sel punca terjadi percepatan waktu penyembuhan luka dibanding dengan pemberian bioplacenton.

Jadi, Berdasarkan penjelasan diatas peneliti tertarik untuk meneliti apakah terdapat perbedaan epitel dan kolagen pada luka bakar derajat II antara pemberian ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan SSD pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* pada hari ke-4, 7, dan 28

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, didapatkan rumusan masalah: Apakah terdapat perbedaan epitel dan kolagen pada luka bakar derajat II antara pemberian ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan krim SSD pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* pada hari ke-4,14, dan 28

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan epitel dan kolagen pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan krim silver sulfadiazine pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* pada hari ke-4, 14, dan 28

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui perbedaan ketebalan epitel pada luka bakar derajat II antara pemberian ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan silver sulfadiazine pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *sprague dawley* pada hari ke-4, 14 dan, 28
- b. Mengetahui perbedaan jumlah kolagen pada luka bakar derajat II antara pemberian ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan silver sulfadiazine pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *sprague dawley* pada hari ke-4, 14 dan, 28

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan memberikan informasi ilmiah terhadap perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya tentang perbedaan pembentukan epitel dan kolagen pada luka bakar derajat II antara pemberian ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan SSD.

1.4.2 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 Bagi Masyarakat

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

1.4.4 Bagi Instansi Terkait

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

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Struktur dan Fungsi Kulit

Kulit adalah organ tubuh yang letaknya paling luar yang merupakan organ esensial dan vital memiliki luas permukaan sekitar 1,5-2 m² (Mescher, 2012). Kulit menyokong penampilan dan kepribadian seseorang, sehingga kulit mempunyai peranan yang penting untuk manusia. Warna kulit setiap orang berbeda beda begitu pula variasi tebal, tipis dan lembutnya.

Kulit terdiri dari beberapa lapisan, lapisan yang pertama di sebut epidermis (kulit ari) lapisan yang kedua lapisan yang lebih dalam adalah jaringan ikat dikenal sebagai dermis. Lapisan epidermis merupakan lapisan yang asalnya dari ektoderm dan lapisan dermis berasal dari mesoderm. Di bagian bawah dermis terdapat hipodermis atau jaringan subkutan. Tidak ada batas tegas yang memisahkan antara subkutis dengan dermis namun pada lapisan subkutis ditandai dengan adanya jaringan ikat longgar dan sel adiposit (Mescher, 2012).

2.1.1 Epidermis

Epidermis adalah bagian kulit yang banyak terdapat epitel. Lapisan epitel epidermis bagian basal merupakan epitel yang berbentuk kuboid sedangkan untuk lapisan lebih luarnya terdiri dari sel epitel gepeng (Sherwood, 2014). Epidermis memperbarui diri sekitar 2-3 minggu sekali bergantung pada usia, dan faktor tubuh (Mescher, 2012). Epidermis terdiri dari lima lapisan yaitu:

a. Stratum korneum

Nama lain stratum korneum adalah lapisan tanduk merupakan lapisan epidermis paling atas. Stratum korneum terdiri dari 15-20 lapis epitel gepeng berkeratin tanpa inti dan beberapa lapis sel sel gepeng yang mati (Mescher, 2012; Rihatmadja, 2015).

b. Stratum Lusidum

Lapisan lusidum terletak dibawah lapisan korneum di sebut juga sebagai *barrier*. Lapisan ini terdiri atas lapisan sel gepeng tanpa inti. Memiliki protoplasma yang nantinya akan diubah menjadi protein eleidin (Mescher, 2012; Rihatmadja, 2015).

c. Stratum Granulosum

Merupakan lapisan keratohialin. Memiliki 2-3 lapis sel gepeng sitoplasmanya berisikan masa basofilik, kasar dan terdapat inti. Memiliki struktur khas berupa granula lamela yang di bentuk oleh berbagai macam lipid berfungsi sebagai sawar epidermis terhadap penetrasi benda asing (Mescher, 2012; Rihatmadja, 2015).

d. Stratum Spinosum

Lapisan spinosum terdiri dari beberapa lapis sel-sel poligonal yang ukurannya berbeda-beda, semakin ke permukaan ukuran sel semakin besar karena proses mitosis. Nukleus dan sitoplasmanya aktif membuat filamen keratin. Ciri khas dari lapisan ini adalah antara sel satu dengan lainnya terdapat sel langerhans dan memiliki inti yang mengandung glikogen (Mescher, 2012; Rihatmadja, 2015).

e. Stratum Basal

Stratum basal terdiri dari lapisan berbentuk kolumnar yang susunanya vertikal terletak pada perbatasan dermis dan epidermis, sel selnya berbaris membentuk pagar (palisade). Stratum basal merupakan stratum yang bermitosis dan berfungsi sebagai reproduksi. Pada lapisan ini juga terdapat sel melanosit atau *clear cell* yang berfungsi sebagai pigmen warna pada kulit (Tortora & Derrickson, 2011; Mescher, 2012).

2.1.2 Dermis

Dermis merupakan lapisan yang lebih tebal dibandingkan epidermis, ketebalan dermis bervariasi bergantung pada area tubuh. Dermis terdiri atas lapisan elastik dan fibrosa yang padat yang berfungsi sebagai untuk peregangan, dan serat kolagen yang berfungsi sebagai pembentuk jaringan kulit yang menjaga kelenturan dari kulit serta terdapat banyak pembuluh darah dan serabut saraf yang memasok

darah ke dermis dan epidermis serta mengatur termoregulasi tubuh. Reseptor ujung saraf perifer serat saraf eferen mendeteksi tekanan, nyeri, suhu, serta input sensorik lainnya sedangkan ujung saraf eferennya berfungsi ereksi rambut, sekresi dari kelenjar eksokrin kulit serta mengontrol kaliber pembuluh darah (Sherwood, 2014).

Dermis terdiri dari dua lapisan, dibagian luar terdapat lapisan papilar yang terdiri atas jaringan ikat longgar, fibroblas, sel mast dan makrofag yang berfungsi sebagai salah satu sistem pertahanan imun pada kulit. Dibagian dalam terdapat lapisan retikular, lapisan ini lebih tebal dibanding lapisan papilar terdiri atas jaringan ikat padat iregular, banyak serat, dan sel yang sedikit (Mescher, 2012).

Pada dermis terdapat kelenjar eksokrin kulit seperti kelenjar keringat dan kelenjar sebacea. Kelenjar keringat mempunyai peran penting dalam pengaturan suhu tubuh, kelenjar keringat terletak di hampir semua tubuh, jumlah keringat yang diproduksi tergantung pada suhu, aktivitas fisik, dan emosional. Kelenjar sebacea menghasilkan sebum atau minyak. Minyak yang diproduksi untuk meminyaki rambut dan lapisan kulit berkeratin (Sherwood, 2014).

2.1.3 Subkutis

Subkutis merupakan kelanjutan dari dermis, lapisan ini berisi lemak dengan sel yang bulat, besar, dan inti yang terdesak ke pinggir, terdapat pembuluh darah untuk pengiriman nutrisi ke kulit. Lapisan sel-sel lemak disebut juga panikulus adiposa yang memiliki fungsi sebagai cadangan makanan agar kulit selalu mendapat asupan nutrisi yang cukup (Mescher, 2012; Sherwood, 2014).

2.2 Luka Bakar

2.2.1 Definisi Luka Bakar

Luka bakar merupakan cedera pada jaringan yang disebabkan oleh kontak dengan panas berlebihan, bahan kimia seperti bahan-bahan korosif, listrik serta radiasi. Luka bakar merupakan jenis trauma dengan mortalitas dan morbiditas tinggi (Moenadjat, 2009)

2.2.2 Klasifikasi Luka Bakar

2.2.2.1 Berdasarkan Penyebab

Berdasarkan penyebabnya luka bakar dapat terjadi karena (Moenadjat, 2009):

- a. api atau benda panas
- b. minyak panas
- c. air panas

- d. bahan kimia
- e. listrik
- f. radiasi
- g. Trauma akibat suhu sangat rendah

2.2.2.2. Berdasarkan Dalamnya Kerusakan Jaringan

Berdasarkan dalamnya kerusakan jaringan luka bakar dibedakan menjadi:

a. Luka bakar derajat I

Luka bakar derajat I kerap diberi simbol 1° , kerusakan jaringan luka bakar derajat I terbatas pada kulit bagian superfisial yaitu epidermis, perlekatan antara epidermis dengan dermis masih baik. Luka bakar derajat I biasanya disebabkan akibat sengatan matahari biasanya kulit nampak eritema dan nyeri karena saraf sensorik teriritasi, penyembuhannya dapat terjadi secara spontan dalam waktu 5-7 hari (Tiwari, 2012)

b. Luka bakar derajat II

Luka bakar derajat II diberi simbol 2° , kerusakan yang terjadi meliputi seluruh epidermis dan sebagian dermis superfisial, terasa nyeri dan timbul respon inflamasi berupa reaksi inflamasi akut disertai proses eksudasi (Moenadjat, 2009)

c. Luka bakar derajat III

Kerusakan yang terjadi pada luka bakar derajat II meliputi epidermis, dermis, dan subkutis. Kulit yang terbakar tampak berwarna pucat, tidak dijumpai rasa nyeri karena ujung-ujung saraf sensorik mengalami kerusakan, penyembuhan berlangsung lama, proses epitelisasi spontan tidak dimungkinkan karena rusaknya membrana basalis, folikel rambut, kelenjar keringat, dan kelenjar sebacea yang memiliki potensi epitelisasi mengalami kerusakan, luka bakar derajat III kerap diberi simbol 3° (Moenadjat, 2009; Tiwari, 2012)

2.2.3 Patofisiologi Luka Bakar

Saat terjadi kontak antara panas dengan kulit tubuh akan merespon untuk mempertahankan homeostasis dengan adanya proses, kontraksi, retraksi, dan koagulasi pembuluh darah. Respon inflamasi lokal menyebabkan terbentuknya 3 zona pada kulit yaitu (Hettiaratchy & Dziewulski, 2004):

a. Zona Koagulasi

Zona koagulasi terdiri atas jaringan yang mengalami nekrosis terbentuk karena koagulasi dari protein, berlokasi ditengah pada tempat yang langsung mengalami kontak dengan panas dan mengalami kerusakan

b. Zona Statis

Zona statis berada diluar sekitar zona koagulasi, terjadi kerusakan endotel pembuluh darah beserta trombosit dan leukosit, sehingga terjadi gangguan perfusi, serta terjadi perubahan permeabilitas dan respon inflamasi yang beresiko iskemia jaringan.

c. Zona hiperemis

Zona hiperemis merupakan zona yang mengalami cedera sel yang ringan, zona ini dapat sembuh dengan spontan atau dapat berubah menjadi zona statis.

2.2.4 Proses Penyembuhan Luka Bakar

2.2.4.1 Fase Inflamasi

Fase inflamasi terjadi disemua luka trauma, segera setelah cedera terjadi tubuh mengeluarkan respon inflamasi. Respon inflamasi terdiri atas respon vaskular dan seluler. Pada respon vaskular terjadi vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas kapiler sehingga mengakibatkan terjadinya ekstrasvasasi plasma yang sering membuat syok hipovolemik. Respon seluler ditandai dengan migrasi neutrofil dan monosit ke tempat peradangan. Migrasi terjadi karena adanya faktor kemotaktik yang dilepaskan pada saat proses koagulasi serta sel mast seperti TNF (*tumor necrosis factors*), histamin, protease, leukotrein, dan sitokin. Respon

seluler membantu dalam fagositosis jaringan mati yang terbakar. Fase inflamasi umumnya terjadi sampai hari ke-5 (Li *et al.*, 2007; Guo & DiPietro, 2010).

2.2.4.2 Fase Proliferasi

Fase proliferasi umumnya berlangsung mulai hari ke-4, reepitelisasi pada luka bakar dimulai dalam bentuk migrasi dari keratinosit bagian dermis kulit yang masih sehat beberapa jam setelah kulit terbakar. fibroblas dan miofibroblas yang ada pada sekeliling jaringan distimulasi untuk berproliferasi kemudian bermigrasi ke daerah luka ditarik oleh faktor seperti TGF- β , PDGF yang dilepaskan oleh sel inflamasi dan platelet. Fibroblas memproduksi kolagen tipe III yang penting pada penyembuhan luka, kolagen memberikan integritas dan kekuatan jaringan. Kolagen bekerja sebagai dasar pembentukan matriks ekstraseluler di dalam luka (Velnar, Bailey and Smrkolj, 2009). Faktor preangiogenik yang diproduksi makrofag seperti *vaskular endothelial growth factor* (VEGF), *fibroblas growth factor* (FGF)-2, *angiopietin-1* dan *thrombospondin* akan menstimulasi sel endotel membentuk neovaskular melalui proses angiogenesis (Li *et al.*, 2007).

2.2.4.3 Fase Remodeling

Fase remodeling berlangsung mulai hari ke-21 hingga bertahun-tahun. Fase ini merupakan fase terakhir, kolagen tipe III yang terbentuk saat fase proliferasi digantikan oleh kolagen tipe I dengan bantuan *matrix metalloproteinase* (MMP) yang disekresi oleh fibroblas, makrofag, dan sel endotel. Remodeling luka dikontrol melalui mekanisme pengaturan dengan tujuan memelihara keseimbangan antara sintesis dan degradasi menuju penyembuhan luka normal (Li *et al.*, 2007).

2.3 Silver Sulfadiazine

Terapi antibiotik yang tepat harus segera diberikan untuk mencegah kerusakan jaringan lebih lanjut. Silver sulfadiazine (SSD) merupakan antibiotik topikal yang menjadi baku emas dalam pengobatan luka bakar. Mekanisme kerja dari SSD yaitu ion silver akan teroksidasi dan akan berikatan dengan bakteri, kemudian molekul sulfadiazine akan aktif. Terjadi perubahan struktur dan perlemahan dinding sel bakteri, yang mengakibatkan distorsi dan pembesaran dari sel bakteri ketika bakteri terpapar oleh SSD (Venkataraman & Nagarsenker, 2013). Luka bakar rentan terinfeksi oleh mikroorganisme, infeksi akan memperlambat dan menghambat penyembuhan luka bakar yang dapat menyebabkan peningkatan mortalitas (Saeidinia *et al.*, 2017).

Silver sulfadiazine diaplikasikan secara topikal pada luka bakar dengan sebelumnya membersihkan area luka terlebih dahulu kemudian krim dioleskan menggunakan sarung tangan steril pada permukaan kulit 1-2 kali sehari. SSD merupakan antibiotik golongan sulfonamid yang sering digunakan dalam pengobatan penyakit dermatologis (MIMS, 2017). Walaupun jarang terjadi, efek samping bisa muncul seperti rasa terbakar, gatal, dan erupsi kulit, SSD merupakan obat pilihan pertama dalam pencegahan infeksi luka bakar (Setiabudy & Mariana, 2007)

2.4 Sel Punca

Sel punca adalah sel yang belum memiliki kemampuan untuk membentuk jaringan tubuh (Jusuf, 2008). Beberapa tahun terakhir penelitian mengenai sel punca (*Stem cell*) sedang banyak dilakukan. Sel Punca mempunyai 2 sifat yang khas yaitu *Differentiate* yaitu kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi sel lain dan *Self regenerate* yaitu kemampuan untuk memperbaharui atau meregenerasi dirinya sendiri. Stem cells mampu membuat salinan sel yang persis sama dengan dirinya melalui pembelahan sel (Jusuf, 2008).

2.4.1 Klasifikasi Sel Punca

2.4.1.1 Berdasarkan Asalnya

Berdasarkan tempat asalnya sel punca dikelompokkan ke dalam beberapa kelompok yaitu:

a. Sel punca ekstraembrional

Sel punca ekstraembrional dapat diambil dari placenta, sumsum tulang, dan jaringan lemak. Sel punca ekstraembrional dapat menjadi sel punca hematopoetik dan sel punca mesenkimal yang dapat berproliferasi dengan baik. Untuk transplantasinya tidak membutuhkan HLA (*human leukocytes antigen*) karena imunogenitasnya yang rendah. (Djauhari, 2010) Yuliana & Suryani,2012)

b. Sel punca fetal

Sel punca ini merupakan sel punca yang premitif, dapat ditemukan pada organ janin. Otak dapat menghasilkan sel neural, jaringan pankreas menghasilkan sel beta, serta darah, placenta, dan talu pusat kaya akan sel punca hematopoietik (Djauhari, 2010)

c. Sel punca embrionik

Sel punca embrionik diambil dari embrio pada fase blastosit, sel-sel di isolasi dan di kultur secara *in vitro*. Sel punca embrional dapat menjadi semua sel yang

terdapat pada orang dewasa seperti sel darah, sel otot, sel hati, sel ginjal serta sel lainnya (Djauhari, 2010).

2.4.1.2 Berdasarkan Karakteristiknya

Berdasarkan karakteristiknya stem cells dibagi menjadi :

a. Totipoten

Sel punca totipoten merupakan sel punca yang dapat berdiferensiasi menjadi semua jenis sel termasuk menjadi placenta dan tali pusat. sel punca kelompok ini mempunyai kemampuan untuk membentuk satu individu yang utuh. zigot dan morula termasuk dalam jenis sel punca totipoten (Jusuf, 2008; Morus *et al.*, 2014)

b. Pluripoten

sel punca pluripoten dapat berdiferensiasi menjadi 3 lapisan germinal (ektoderm, mesoderm, dan endoderm). Yang termasuk sel punca pluripoten adalah sel punca embrionik (*embryonic stem cells*) (Jusuf, 2008; Morus *et al.*, 2014).

c. Multipoten

Sel punca multipoten merupakan sel punca yang dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel seperti sel punca hemopoetik dan sel punca mesenkimal yang

bisa di dapat dari sumsum tulang dan tali pusat. (Jusuf, 2008; Morus *et al.*, 2014).

d. Unipoten

Sel punca unipotent adalah sel punca yang hanya dapat berdiferensiasi menjadi 1 jenis sel. Contohnya *erythroid progenitor cells* hanya mampu berdiferensiasi menjadi sel darah merah (Jusuf, 2008; Morus *et al.*, 2014).

e. Oligopoten

Sel punca oligopoten memiliki kemampuan diferensiasi menjadi beberapa jenis sel, seperti sel punca mieloid atau sel punca limfoid (Kalra & Tomar, 2014)

2.5 Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia

Tali pusat atau dalam istilah kedokteran disebut *Umbilical cord* merupakan organ yang berfungsi menghubungkan antara placenta dengan tubuh janin sehingga janin mendapatkan asupan makanan, oksigen, serta antibodi dari ibu. Tali pusat terdiri dari satu buah vena umbilikal, mengalirkan darah yang kaya akan nutrien serta oksigen dan dua buah arteri umbilikal yang berisi darah kotor. Tali pusat terus bertambah panjang selama hamil dan panjang akhirnya bisa mencapai sekitar 30-90 cm. Didalam tali pusat terdapat masa mukopolisakarida yang biasanya disebut jeli Wharton yang di tutupi oleh epitel amnion (Kim *et al.*, 2013; Prawirohardjo, 2014)

Sel punca mesenkimal tali pusat manusia merupakan sel punca yang memiliki kemampuan multipoten, sel punca jenis ini relatif mudah didapatkan dan bisa digunakan tanpa masalah etik, karena prosedur pengambilannya tidak invasif dan tali pusat merupakan jaringan yang dibuang setelah melahirkan (Kim *et al.*, 2013)

Sel punca mesenkimal memiliki kemampuan yang sangat baik dengan bekerja melalui 5 jalur utama yaitu (Lee *et al.*, 2016):

- a. kemampuan imunomodulator dengan menekan migrasi sel infamasi, menekan produksi IL-1, TNF- α , ICAM1 dan meningkatkan produksi SOD, GPx, IL-10
- b. Meningkatkan remodeling ekstra seluler matriks melalui peningkatan kolagen, serat elastis, fibroblas dan menurunkan produksi MMP-1
- c. Meningkatkan regenerasi kulit dengan meningkatkan ketebalan epidermis yang diregenerasi dan melengkapi struktur kulit yang hilang
- d. Meningkatkan proses angiogenesis dengan meningkatkan produksi VEGF, HGF serta meningkatkan kepadatan dari pembuluh darah
- e. Pada luka sel punca mesenkimal bekerja dengan meningkatkan migrasi dari fibroblas dan keratinosit sehingga mempercepat penutupan luka

2.6 Gambaran Umum Hewan Coba

2.6.1 Taksonomi

Berikut adalah taksonominya (Sharp & Villano, 2012).

Kingdom	: Animalia
Filum	: Cordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Familia	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

2.6.2 Biologi Tikus

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah hewan pengerat yang sering digunakan sebagai hewan percobaan atau sebagai subjek penelitian. Dalam konteks penelitian, tikus putih memiliki berbagai sifat menguntungkan, seperti: cepat berkembang biak, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, lebih tenang, dan ukurannya lebih besar daripada mencit. Secara fisik, tikus putih memiliki ciri-ciri albino, kepala kecil dan ekor yang lebih panjang dibandingkan badannya. Tikus putih memiliki pertumbuhan yang cepat, tahan terhadap perlakuan dan kemampuan laktasi yang tinggi (Isroi, 2010).

Tikus galur *Sprague Dawley* merupakan jenis *outbred* tikus albino yang dikembangkan dari tikus galur *Wistar*. Keuntungan utama dari tikus ini adalah ketenangan dan kemudahan penanganannya. Berat badan tikus galur *Sprague dawley* dewasa adalah 250-300 g bagi betina, dan 450-520 g untuk jantan. (Isroi, 2010).

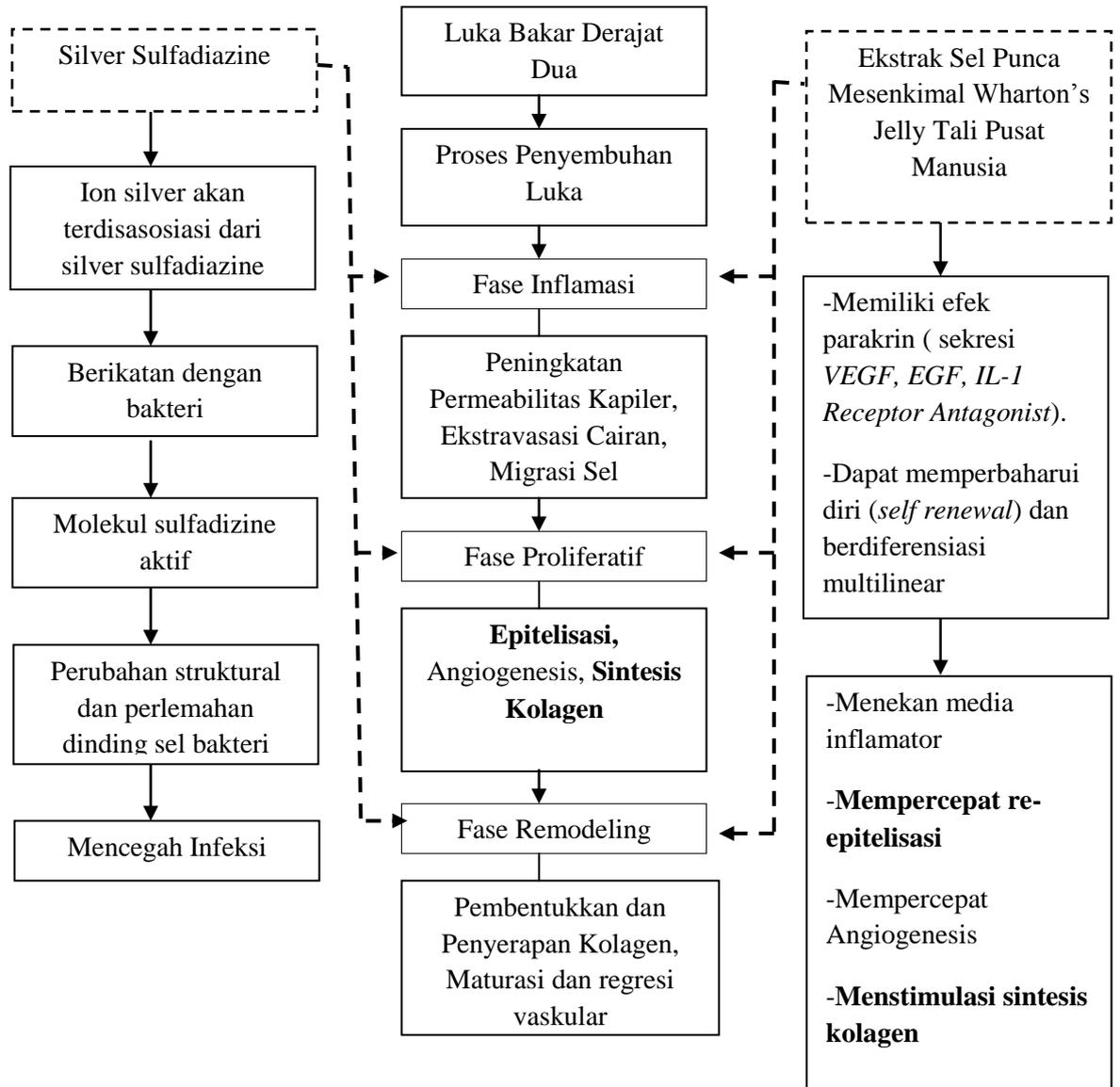
Siklus hidup tikus laboratorium dipengaruhi oleh galur, diet, jenis kelamin, kondisi lingkungan dan variabel lain. Maksimum siklus hidup dari tikus laboratorium adalah 2 sampai 3.5 tahun, sedangkan *Sprague dawley* memiliki siklus hidup yang lebih singkat, yaitu hanya berkisar sampai 2 tahun. Tikus dapat mengalami dehidrasi dan kehilangan berat badannya, oleh karena itu diperlukan waktu ekulibrium (periode pemulihan) setelah tikus diterima dari peternak komersial selama minimal 1 minggu, sebanding dengan lama waktu yang dihabiskan untuk transit. Mobilisasi tikus harus diperhatikan, pergerakan tikus dengan jarak jauh sebaiknya dihindari karena member dampak stress yang berkepanjangan sehingga berpengaruh pada fisiologi dan perilaku tikus. Pemeliharaan tikus harus sesuai, mulai dari fasilitas tempat tinggal, makanan dan kebutuhan tikus lainnya untuk menghindari kerusakan fisiologis yang dapat mempengaruhi hasil penelitian.. Temperatur yang baik untuk lingkungan hidup tikus laboratorium adalah 20-25⁰c dengan tingkat kebisingan kurang dari 85dB. Kebutuhan pangan tikus laboratorium

rata-rata adalah 12-30 gram perhari dan membutuhkan cairan sekitar 140 ml/kgBB perhari (Sharp & Villano, 2012).

Tikus sering digunakan menjadi hewan coba dalam terapi penyembuhan luka, selain karena mudah didapatkan tikus relatif murah dan penanganannya mudah. Fase penyembuhan pada model luka eksisi pada tikus berlangsung lebih cepat dibandingkan dengan manusia karena tikus memiliki lapisan otot subkutan yang ekstensif yaitu *panniculus carnosus*, yang memudahkan penutupan luka pada kulit tikus (Galiano *et al.*, 2004)

.
Pada percobaan yang dilakukan oleh (Pereira *et al.*, 2012) mengenai luka bakar derajat II pada tikus, tikus mengalami penutupan luka pada hari ke-28. Pada hari ke-28 tidak didapatkan adanya edema, dan hiperemis secara makroskopis. Secara mikroskopis pada hari ke-7 didapatkan destruksi komplet lapisan epidermis dan dermis banyak terdapat sel radang. Pada hari ke-14 didapatkan epitel tipis, banyak jaringan granulasi, dan kolagen. Pada hari ke-28 tidak didapatkan adanya sel inflamasi, jaringan granulasi tidak ada dan terdapat adanya fibrosis.

2.6 Kerangka Teori

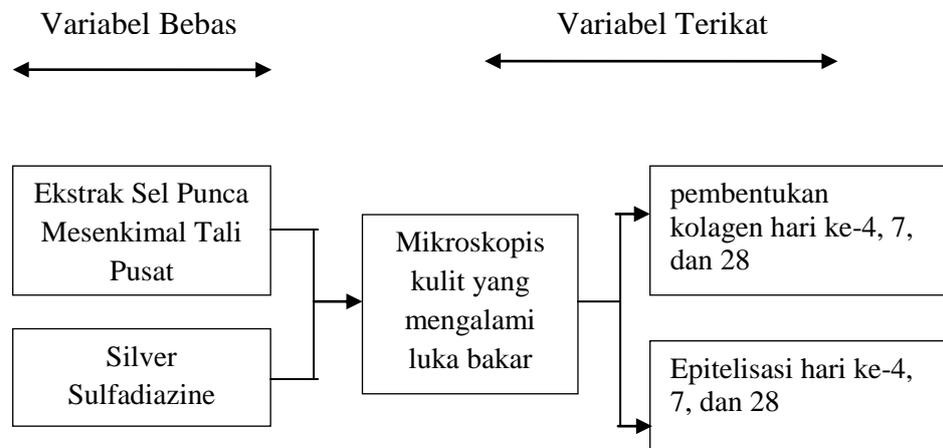


Keterangan:

- [- - -] = Variabel Bebas
- - -> = Fase yang dilihat
- Huruf Cetak tebal = Variabel Terikat

Gambar 1. Kerangka Teori

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2. Kerangka Konsep

2.8 Hipotesis

Berdasarkan tinjauan pustaka di atas maka hipotesis dari penelitian ini adalah:

Ha: Terdapat perbedaan pembentukan epitel dan kolagen pada luka bakar derajat II antara pemberian ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan krim Silver sulfadiazine pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* pada hari ke4, 14, dan 28

Ho: Tidak terdapat perbedaan pembentukan epitel dan kolagen pada luka bakar derajat II antara pemberian ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan krim Silver sulfadiazine pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* pada hari ke-4, 14 dan 28.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *post test only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan penyembuhan luka bakar derajat II secara mikroskopis antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan krim silver sulfadiazine pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2017 sampai dengan Desember 2017 dan dilakukan di beberapa tempat, antara lain:

- a. *Animal house* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung
- b. Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Lampung
- c. Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* berumur 2-3 bulan dengan berat sekitar 250-300 gram

3.3.2 Sampel Penelitian

Menurut Notoadmodjo (2010), sampel adalah sebagian yang diambil dari seluruh objek yang diteliti dan dianggap memiliki seluruh populasi. Adapun untuk uji eksperimental, penentuan jumlah sampel ditentukan menurut rumus frederer, yaitu

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

t = banyaknya kelompok perlakuan

n = jumlah sampel tiap kelompok

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

$$(n-1) (9-1) \geq 15$$

$$(n-1)8 \geq 15$$

$$(n-1) \geq 15/8$$

$$n \geq 2,875$$

Berdasarkan rumus tersebut, jumlah sampel yang digunakan untuk masing-masing kelompok perlakuan adalah 3 ekor tikus dan jumlah minimal sampel untuk 9 kelompok perlakuan adalah 27 ekor tikus.

Pembagian sampel ke dalam 9 kelompok perlakuan dilakukan dengan pemilihan secara acak.

3.3.3 Teknik Sampling

Sampling merupakan sebuah cara yang digunakan untuk memilih elemen dari populasi untuk diteliti. Pada Penelitian ini pengambilan sampel dilakukan dengan cara *simple random sampling*.

3.3.4 Kelompok Perlakuan

Kelompok perlakuan dalam penelitian ini disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Kelompok Perlakuan

Kelompok	Perlakuan
Kelompok 1 (K4)	Kelompok tikus yang hanya diberi makan tanpa adanya perlakuan apapun diterminasi pada hari ke-4
Kelompok2 (SC4)	Kelompok tikus yang diberikan sel punca mesenkimal diterminasi pada hari ke-4
Kelompok 3 (SSD4)	Kelompok tikus yang diberi krim <i>Silver sulvadiazine</i> diterminasi pada hari ke-4
Kelompok 4 (K14)	Kelompok tikus yang hanya diberi makan tanpa perlakuan apapun diterminasi pada hari ke-14
Kelompok5 (SC14)	Kelompok tikus yang diberikan sel punca mesenkimal diterminasi pada hari ke-14
Kelompok6 (SSD14)	Kelompok tikus yang diberikan <i>Silver sulvadiazine</i> diterminasi pada hari ke-14
Kelompok 7 (K28)	Kelompok tikus yang hanya diberi makan tanpa adanya perlakuan apapun diterminasi pada hari ke-28
Kelompok 8 (SC28)	Kelompok tikus yang diberikan sel punca mesenkimal diterminasi pada hari ke-28
Kelompok9 (SSD28)	Kelompok tikus yang diberikan <i>Silver sulvadiazine</i> diterminasi pada hari ke-28

3.3.5 Kriteria Inklusi

- a. Sehat (tidak nampak sakit, rambut tidak rontok dan nampak kusam, aktivitas aktif)
- b. Jantan
- c. Berat badan 250-300 gram
- d. Usia 2-3 bulan

3.3.6 Kriteria Eksklusi

- a. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi
- b. Mati selama masa pemberian perlakuan

3.4 Identifikasi Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah sediaan topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan krim silver sulfadiazin.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah mikroskopis luka bakar pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang meliputi pembentukan epitel dan kolagen

3.5 Definisi Operasional

Definisi operasional penelitian disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Definisi Operasional

N o	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Variabel Bebas					
1	Ekstrak Sel Punca Mesenkimal wharton's jelly Tali Pusat Manusia	Ekstrak DNA sel punca mesenkimal yang diisolasi dari tali pusat manusia dan diekstraksi di Laboratorium Biologi Molekuler FK UNILA dioleskan topikal 1 kali sehari.	Lembar Observasi	Diberi/ Tidak diberi	Nominal
2	Silver Sulfadiazine	Silver sulfadiazine diambil dari sediaan krim burnazin, tiap gram krim burnazin mengandung silver sulfadiazine 10 mg. Pemakaian dengan cara dioleskan 1 kali sehari.	Lembar Observasi	Diberi/ Tidak diberi	Nominal
Variabel terikat					
4	Epitel dan Kolagen	Jaringan yang terbentuk setelah terjadinya luka bakar pada kulit. Dilihat dengan melakukan pengamatan preparat menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x pada seluruh lapang pandang berdasarkan kriteria pembentukan epitel dan kolagen	Mikroskop cahaya	Ketebalan epitel: 0 : Tidak terdapat adanya epitel 1 : epitel sangat tipis $\leq 30\%$ dari epitel kulit normal 2: epitel tipis $\geq 30\%$ dari epitel kulit normal 3: Ketebalan epitel sedang $\geq 60\%$ dari epitel kulit normal 4: ketebalan epitel baik 80% dari epitel kulit normal Jumlah Kolagen 0 : Tidak terdapat pembentukan kolagen 1 : Sangat sedikit 2: Sedikit 3: Sedang 4: Banyak	Numerik

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat Penelitian

- a. Kandang hewan coba
- b. Pisau ukur
- c. Timbangan
- d. Bar besi (berbentuk lingkaran atau koin)
- e. Gelas beker
- f. Mikropipet beserta tipnya
- g. *Quick DNA* Miniprep kit (tabung zymo-spin IIC-XL Column)
- h. Inkubator
- i. Kassa steril
- j. Tabung mikrosentrifugasi
- k. Alat mikrosentrifugasi
- l. Spuit 1cc dan jarum
- m. Panci rebusan
- n. Capitan besi
- o. Pisau scapel steril
- p. Penggaris ukur
- q. Vortexer

3.6.2 Bahan Penelitian

- a. Alkohol 70%
- b. NaCL fisiologis
- c. Pakan dan minum tikus
- d. Larutan buffer garam fosfat
- e. Tali pusat manusia
- f. *Quick DNA Miniprep plus kit (Solid Tissue Buffer, Proteinase K, Genomic Binding Buffer, DNA-pre wash Buffer, g-DNA Wash Buffer, dan DNA Elution Buffer)*
- g. Ketamin HCL dan xylazin
- h. Akuades
- i. Krim Burnazin

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Aklimatisasi Hewan Uji

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

3.7.2 Pembuatan Ekstrak Sel Punca Mesenkimal

Penelitian dilakukan setelah mendapat persetujuan *ethical clearance* dari Komisi etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Tali pusat didapatkan dari donor sukarela yang menandatangani lembar *informed consent*. Donor sukarela adalah 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. 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 4⁰C sampai proses pengolahan dilakukan. Tali pusat ditangani secara aseptik dan diproses dalam *biological safety cabinet*. Permukaan tali pusat dibilas dengan larutan buffer garam fosfat untuk membersihkannya dari darah yang menempel di permukaan.

Ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dibuat menggunakan *Quick-DNA Miniprep Plus Kit*, produksi *Zymo Research*. Sampel disiapkan dengan memotong jaringan tali pusat, memisahkan bagian pembuluh darah dan lapisan yang menyelimutinya. Sampel diambil dari membran gelatinosa yang menyelimuti pembuluh darah pada tali pusat. Sampel yang telah ditimbang sebesar 25 mg menggunakan timbangan digital dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifugasi kemudian di tambah

dengan 95 μ L air, 95 μ L *Solid Tissue Buffer*, dan 10 μ L Proteinase K lalu putar menggunakan *vortexer* selama 10-15 detik. Setelah itu, tabung di inkubasi selama 1-3 jam pada suhu 55⁰C (Zymo, 2017).

Setelah inkubasi selesai, masukkan tabung ke dalam mikrosentrifugasi, lalu putar dengan kecepatan 1200 xg selama satu menit, lalu ambil *supernatant* dan pindahkan ke dalam tabung mikrosentrifugasi baru. *Supernatant* yang telah dipisahkan kemudian ditambahkan dengan *Genomic Binding Buffer* sebanyak dua kali volume *supernatant* tersebut (contoh: tambahkan 400 μ L *Genomic Binding Buffer* untuk 200 μ L *supernatant*), *vortex* selama 10-15 detik. Pindahkan campuran tersebut ke tabung *Zymo-Spin IIC-XL* dalam tabung pengumpul lalu sentrifugasi dengan kecepatan 1200 xg selama 1 menit, kemudian kosongkan tabung pengumpul dan ganti dengan tabung pengumpul baru (Zymo, 2017).

Pada tabung *Zymo-Spin IIC-XL* dalam tabung pengumpul baru tambahkan 400 μ L *DNA Pre-Wash Buffer* lalu sentrifugasi dengan kecepatan 1200 xg, kosongkan tabung pengumpul. Kemudian tambahkan 700 μ L *g-DNA Wash Buffer* pada tabung *Zymo-Spin IIC-XL* dalam tabung pengumpul yang telah dikosongkan lalu sentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.000 xg selama 1 menit, lalu kosongkan tabung pengumpul. Setelah itu, tambahkan kembali 200 μ L *g-DNA Wash Buffer* pada tabung *Zymo-Spin IIC-XL* dalam

tabung pengumpul yang telah dikosongkan lalu sentrifugasi dengan kecepatan dan waktu yang sama dengan proses sebelumnya, lalu kosongkan tabung pengumpul. Terakhir, pindahkan tabung *Zymo-Spin* yang telah ditambahkan 50 μ L *DNA elution* ke dalam tabung mikrosentrifugasi baru, lalu inkubasi pada suhu ruang selama 5 menit, kemudian di sentrifugasi dengan kecepatan 12.000 xg selama 1 menit. Terbentuklah 50 μ L ekstrak sel punca mesenkimal *wharton's jelly* tali pusat manusia. Simpan pada suhu -20°C sampai ekstrak akan digunakan (Zymo, 2017).

3.7.3 Pembuatan Luka Bakar

Sebelum pembuatan luka bakar dilakukan, bulu di sekitar area perlukaan dicukur terlebih dahulu. Sebelum pencukuran, tikus dianastesi menggunakan ketamin 50mg/kg dan xylazin 5mg/kg intramuskuler. Luka bakar ini didapatkan dari uang logam dengan berat 5.34 gram, tebal 1.83 mm, dan diameter 24 mm. Logam tersebut dibalut dengan kassa dan direndam pada air mendidih dengan suhu 98°C selama 3 menit selanjutnya bahan tersebut ditempelkan pada kulit tikus *Sprague dawley* yang telah dicukur selama 10 detik (Paula *et al.*, 2011).

3.7.4 Pemberian Terapi

Setelah luka bakar di buat, penanganan diberikan berdasarkan protokol perawatan luka bakar (World Health organization, 2003). Setelah luka bakar terbentuk, jika terdapat jaringan nekrosis kita lakukan *debridement* lalu bilas luka dengan menggunakan akuades dan dilanjutkan sesuai dengan kelompok perlakuan yang sudah ditentukan. Luka bakar pada kelompok kontrol negative (K) K4, K14, dan K28 tidak diberi perlakuan. Pada kelompok perlakuan SC4, SC14, SC28 luka diolesi dengan ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia 0.02 mL sampai menutupi seluruh permukaan luka (Nur, 2017), begitupun dengan kelompok perlakuan SSD4, SSD14, SSD28 diolesi dengan krim Burnazin sampai menutupi seluruh permukaan luka. Setelah itu tutup luka dengan kasa untuk mencegah rembesan ke daerah luar luka. Perwatan luka bakar tersebut dilakukan sebanyak satu kali sehari selama 28 hari.

3.7.5 Prosedur Operasional Pembuatan Slide

Pembuatan preparat histopatologi dilakukan dengan menggunakan metode sebagai berikut (Mahesya, 2013)

a. *Fixation*

1. Organ yang telah dipotong secara representatif kemudian segera difiksasi dengan formalin 20% selama 3 jam
2. Dicuci dengan air mengalir sebanyak 3-5 kali

b. Dehidrasi

Dehidrasi dengan:

- Alkohol 70% selama 0,5 jam
- Alkohol 96% selama 0,5 jam
- Alkohol 96% selama 0,5 jam
- Alkohol 96% selama 0,5 jam
- Alkohol absolut selama 1 jam
- Alkohol absolut selama 1 jam
- Alkohol absolut selama 1 jam
- Alkohol xylol 1:1 selama 0,5 jam

c. *Clearing* dengan menggunakan:

Untuk membersihkan sisa alkohol, dilakukan *clearing* dengan xylol I dan II, masing-masing selama 1 jam.

d. Impregnansi

Impregnasi dilakukan menggunakan parafin selama 1 jam dalam *oven* suhu 65°C

e. *Embedding*

1. Sisa parafin yang ada pada pan dibersihkan dengan memanaskan beberapa saat di atas api dan diusap dengan kapas.
2. Parafin cair disiapkan dengan memasukkan parafin ke dalam cangkir logam dan dimasukkan dalam oven dengan suhu diatas 58°C.
3. Parafin cair dituangkan ke dalam pan.

4. Dipindahkan satu persatu dari tissue cassette ke dasar pan dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya.
5. Pan dimasukkan ke dalam air.
6. Parafin yang berisi potongan ginjal dilepaskan dari pan dengan dimasukkan ke dalam suhu 4–6°C beberapa saat.
7. Parafin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan skalpel/pisau hangat.
8. Lalu diletakkan pada balok kayu, diratakan pinggirnya dan dibuat ujungnya sedikit meruncing.
9. Memblok parafin, siap dipotong dengan mikrotom

f. *Cutting*

1. Pemotongan dilakukan pada ruangan dingin.
2. Sebelum dimotong blok didinginkan terlebih dahulu di lemari es.
3. Dilakukan pemotongan kasar, lalu dilanjutkan dengan pemotongan halus dengan ketebalan 4–5 mikron. Pemotongan dilakukan menggunakan *rotary microtome* dengan *disposable knife*.
4. Dipilih lembaran potongan yang paling baik, diapungkan pada air, dan dihilangkan kerutannya dengan cara menekan salah satu sisi lembaran jaringan tersebut dengan ujung jarum dan sisi yang lain ditarik menggunakan kuas runcing.
5. Lembaran jaringan dipindahkan ke dalam water bath suhu 60°C selama beberapa detik sampai mengembang sempurna.

6. Dengan gerakan menyendok, lembaran jaringan tersebut diambil dengan slide bersih dan ditempatkan di tengah atau pada sepertiga atas atau bawah.
 7. Slide yang berisi jaringan ditempatkan pada inkubator (suhu 37°C) selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.
- g. *Staining* (pewarnaan) dengan Prosedur pulasan *Hematoksilin-Eosin*

Setelah jaringan melekat sempurna pada *slide*, dipilih slide yang terbaik selanjutnya secara berurutan memasukkan ke dalam zat kimia di bawah ini dengan waktu sebagai berikut.

1. Dilakukan deparafinisasi dalam:
 - Larutan xylol I selama 5 menit
 - Larutan xylol II selama 5 menit
 - Ethanol absolut selama 1 jam
2. Hidrasi dalam:
 - Alkohol 96% selama 2 menit
 - Alkohol 70% selama 2 menit
 - Air selama 10 menit
3. Pulasan inti dibuat dengan menggunakan:
 - Haris hematoksilin selama 15 menit
 - Air mengalir
 - Eosin selama maksimal 1 menit
4. Lanjutkan dehidrasi dengan menggunakan:
 - Alkohol 70% selama 2 menit

- Alkohol 96% selama 2 menit
 - Alkohol absolut 2 menit
5. Penjernihan:
- Xylol I selama 2 menit
 - Xylol II selama 2 menit
- g. *Mounting* dengan entelan lalu tutup dengan *deck glass*
- h. Setelah pewarnaan selesai, slide ditempatkan di atas kertas tisu pada tempat datar, ditetesi dengan bahan mounting yaitu entelan dan ditutup dengan *deck glass*, cegah jangan sampai terbentuk gelembung udara
- i. slide dibaca dengan mikroskop dengan perbesaran 40x

3.7.6 Penilaian Mikroskopis Luka Bakar

Indikator untuk melihat kesembuhan secara mikroskopis adalah dengan melihat gambaran histopatologi, penilaian ini dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x pada lapang pandang acak setiap spesimen yang diambil dari biopsi insisi luka. Penilaian dinilai menilai tingkat pembentukan epitel dan kolagen dengan kriteria penilaian sebagai berikut:

Penilaian ketebalan epitel (Hazrati *et al.*, 2010):

- 0 : Tidak terdapat adanya epitel
- 1 : epitel sangat tipis $\leq 30\%$ dari epitel kulit normal
- 2 : epitel tipis $>30\%$ dari epitel kulit normal
- 3 : Ketebalan epitel sedang $\geq 60\%$ dari epitel kulit normal

4 : Ketebalan epitel baik 80% dari epitel kulit normal

Penilaian Kolagen (Simonetti *et al.*, 2012):

0 : tidak terdapat adanya kolagen

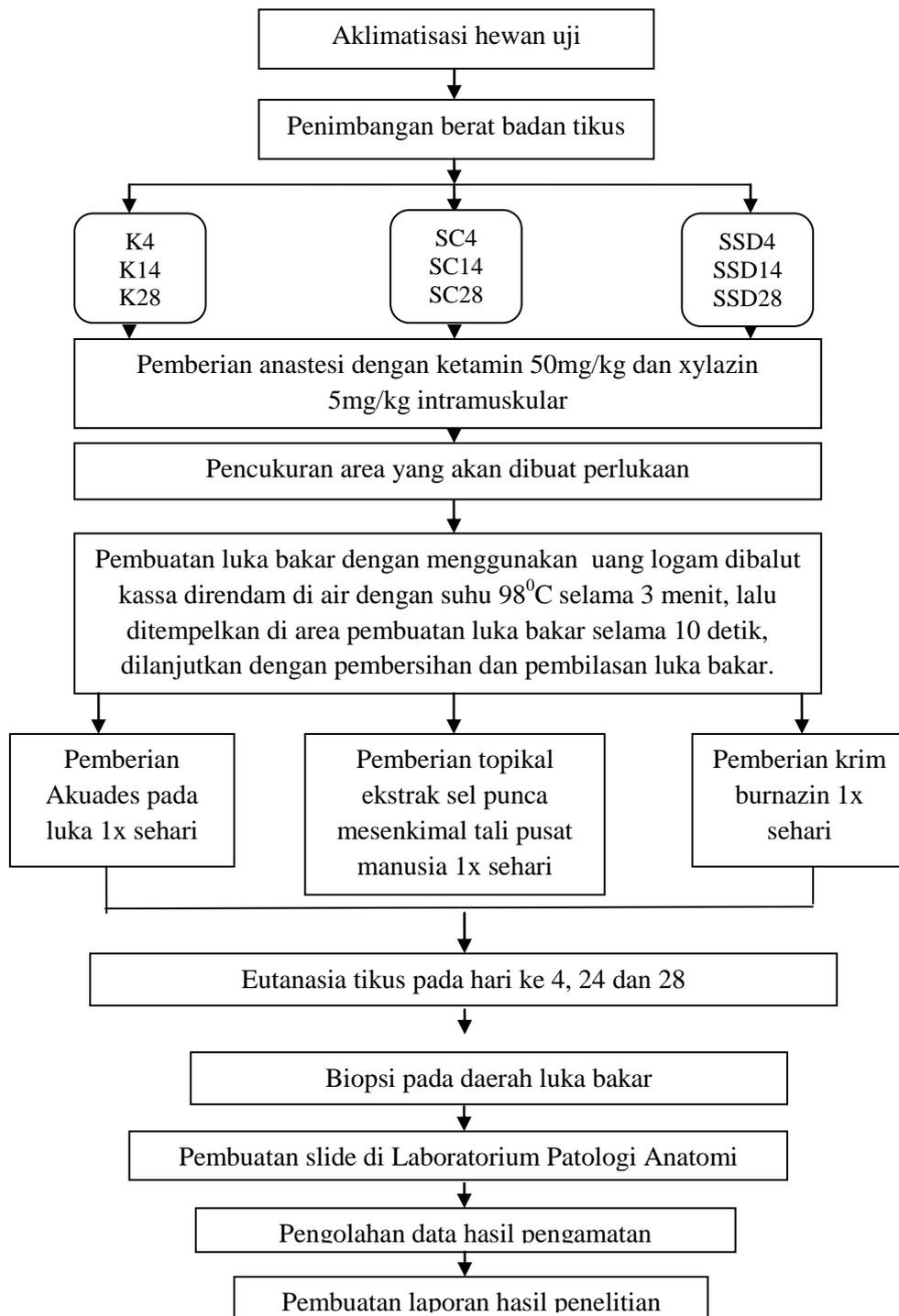
1 : terdapat kolagen yang sangat sedikit

2 : terdapat kolagen dalam jumlah sedikit

3 : terdapat kolagen dalam jumlah sedang

4 : terdapat kolagen dalam jumlah banyak

3.8 Alur Penelitian



Gambar 3. Alur Penelitian

3.9 Analisis Data

Analisis data penelitian diproses dengan aplikasi pengolahan data, dengan tingkat signifikansi $p=0,05$. Hasil penelitian pertama dideskripsikan secara univariat, kemudian data hasil penelitian dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro Wilk* untuk mengetahui data berdistribusi normal atau tidak normal, dan uji homogenitas data menggunakan uji *Levene* untuk mengetahui data homogen atau tidak homogen. Adapun uji *Shapiro Wilk* dipilih karena jumlah sampel <50 . Hasil uji normalitas dan homogenitas ini menentukan analisis berikutnya, yaitu analisis parametrik bila data berdistribusi normal serta homogen dan non parametrik bila data tidak berdistribusi normal serta tidak homogen. Jika data berdistribusi normal serta homogen, maka digunakan uji statistik *One Way ANNOVA*. Jika data tidak berdistribusi normal, maka uji *Kruskal Wallis* sebagai alternatif. Jika pada uji *One Way ANNOVA* menghasilkan nilai $p<0,05$ maka dilanjutkan dengan melakukan analisis Post Hoc (Dahlan, 2009).

3.10 Kaji Etik

Penelitian ini telah diajukan ke Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan persetujuan etik nomor 156/UN26.8/DL/2018

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

1. Terdapat perbedaan rerata ketebalan epitel pada luka bakar derajat II antara pemberian ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan silver sulfadiazine pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* pada hari ke-28
2. Terdapat perbedaan rerata jumlah kolagen pada luka bakar derajat II antara pemberian ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan silver sulfadiazine pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* pada hari ke-14 dan 28

5.2 Saran

1. Diharapkan bagi peneliti selanjutnya tidak hanya menilai mikroskopis ketebalan epitel dan jumlah kolagen saja, namun mikroskopis yang lainnya juga.
2. Diharapkan bagi peneliti yang ingin meneliti hal serupa menggunakan jenis hewan coba yang tingkatannya lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

Arno AI, Amini NS, Blit PH, Al SM, Belo C, Harer E, et al. 2014. Human wharton's jelly mesenchymal stem cells promote skin wound healing through paracrine signaling. *Stem Cell Research & Therapy*, 5(1):28–41.

Dahlan MS. 2009. *Statistik untuk kedokteran dan kesehatan*. Edisi ke-3. Jakarta: Penerbit Salemba Medica.

Djauhari T. 2010. Sel punca. *Jurnal Sainatika Medika*. 6(13):91-6.

Esfahani SA, Imanieh MH, Khoshneviszadeh M, Meshksar A, Noorafshan A, Geramizadeh B, et al. 2012. The healing effect of arnebia euchroma in second degree burn wounds in rat as an animal model. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 14(2):70–4.

Galiano RD, Micheaels J, Dobryansky M, Levine JP, Gurtner GC. Quantitative and reproducible murine model of excisional wound healing. *Wound Repair and Regeneration*. 12(4): 485-92

Guo S, DiPietro LA. 2010. Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*. 89(3): 219–29.

Hazrati M, Mehrabani D, Japoni A, Montasery H, Azarpira N, Shirazi RH, et al. 2010. Effect of honey on healing of *Pseudomonas aeruginosa* infected burn wounds in rat. *Journal of Applied Animal Research*. 37(2):161–5.

Hettiaratchy S, Dziewulski P. 2004. Pathophysiology and types of burns. *Bmj*. 328(7453):1427-9.

Isroi. 2010. Biologi rat (*Rattus norvegicus*). <http://isroi.wordpress.com>. Diakses 20 November 2017

Jusuf AA. 2008. Aspek dasar sel punca embrionik (embryonic stem cell) dan potensi pengembangannya. [Online jurnal][diunduh 3 juli 2017]. Tersedia dari: <http://staff.ui.ac.id>.

Kalra K, Tomar PC. 2014. Stem cell : basics , classification and applications. American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics. 2321-748.

Kemeterian kesehatan. RI. 2013. Riset kesehatan dasar 2013. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kementrian Kesehatan RI.

Kim DW, Staples M, Shinozuka K, Pantheva P, Kang SD, Borlongan C. 2013. Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells: phenotypic characterization and optimizing their therapeutic potential for clinical applications. International Journal of Molecular Sciences. 14(6):11692–712.

Lee DE, Ayoub N, Agrawal DK. 2016. Mesenchymal stem cells and cutaneous wound healing: novel methods to increase cell delivery and therapeutic efficacy. Stem Cell Research & Therapy. 7(1):37.

Li J, Chen J, Kirsner R. 2007. Pathophysiology of acute wound healing. Clinics in Dermatology. 25(1): 9–18.

Mahesya AP. 2013. Pengaruh pemberian minyak goreng bekas yang dimurnikan dengan buah mengkudu (*morinda citrifolia*) terhadap gambaran hepatosit tikus wistar jantan. [Skripsi]. Bandarlampung: Universitas Lampung

Mescher AL. 2012. Histologi dasar junqueira:teks&atlas. Edisi ke-12. Jakarta: EGC

MIMS. 2017. Burnazin. <Http://www.mims.com/indonesia/drug/info/burnazin>. Diakses 25 November 2017

Moenadjat Y. 2009. Luka bakar masalah dan tatalaksana. Edisi ke-4. Jakarta: FKUI

Morus M, Baran M, Rost RM, Skotnicka GU. 2014. Plant stem cells as innovation in cosmetics. *Acta pol Pharm.* 71(5).701–7.

Notoadmodjo S.2010. Metodologi penelitian kesehatan. Jakarta: Rineka Cipta

Nur NN. 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*. [Skripsi]. Bandarlampung: Universitas Lampung.

Paula A, Soares B, Wilker M, Campelo S, Anne G, Britto DC, et all. 2011. An optimized animal model for partial and total skin thickness burns studies. *26(1):38–42.*

Prawirohardjo S. 2014. Ilmu kebidanan. Edisi ke-4. Jakarta: PT.Bina Pustaka Sarwono

Rihatmadja R. 2015. Anatomi dan faal kulit. Dalam: Menaldi SLS, Bramono K, Indriatmi W, penyunting. Ilmu penyakit kulit dan kelamin. Edisi ke-7. Jakarta: Badan Penerbit FKUI.

Rowan MP, Cancio LC, Elster EA, Burmeister DM, Rose LF, Natesan S, et al. 2015. Burn wound healing and treatment: review and advancements. *Critical Care.* 19(1): 1–2.

Saeidinia A, Keihanian F, Lashkari AP, Lahiji HG, Mobayyen M, Heidarzade A, et al. 2017. Partial-thickness burn wounds healing by topical treatment: a randomized controlled comparison between silver sulfadiazine and centiderm. *Medicine.* 96(9):1-9

Pereira DST, Ribeiro MHDL, Filho NTP, Leao AMC, Correia MTS. 2012. Development of animal model for studying deep second-degree thermal burns. *Jounal of Biomedicine and Biotechnology.* 1-7

Setiabudy R, Mariana Y. 2007. Sulfonamid, kotrimoksazol, dan antiseptik saluran kemih. Dalam: Gunawan SG, Setiabudy R, Nafrialdi, Elysabeth. *Farmakologi dan Terapi.* Edisi ke-5. Jakarta: FKUI

Sharp P, Villano J. 2012. *The Laboratory Rat*. Edisi ke-2. CRC press.

Sherwood L. 2014. *Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem*. Edisi ke-2. Jakarta: EGC

Simonetti O, Cirioni O, Lucarini G, Orlando F, Ghiselli R, Silvestri C, et al. 2012. Tigecycline accelerates staphylococcal-infected burn wound healing through matrix metalloproteinase-9 modulation. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(1):191–201.

Tango VTIP. Pengaruh pemberian topikal ekstrak kulit delima pada penyembuhan luka split thickness kulit tikus. [Tesis]. Surabaya: Universitas Airlangga

Tiwari V. 2012. Burn wound: how it differs from other wounds. *Indian J Plast Surg*. 45(2):364–73.

Tortora GJ, Derrickson B. 2011. *Principles of anatomy & physiology*. Edisi ke-13. United States of America: John Wiley & Sons, Inc.

Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. 2009. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *Journal of International Medical Research*. 37(5):1528–42.

Venkataraman M, Nagarsenker M. 2013. Silver sulfadiazine nanosystems for burn therapy. *AAPS PharmSciTech*. 14(1). 254–64.

Vincy LAIW. 2004. Comparison of MEBO with silver sulfadiazine (Ag-S) for the treatment of deep injury. *Chin J Plast Burn Surg*. 1-89.

World Health Organization. 2003. Surgical Care at District Hospital. *Surgical care at District Hospital*. 39(222):359.

World Health Organization. 2014. WHO Health estimates 2014 summary tables: deaths and global burden of disease. WHO.

Yuliana I, Suryani D. 2012. Terapi sel punca pada infark miokard. *Bioteknologi*. 11(2):176-90

Zymo R. 2017. Quick DNA Miniprep Plus Kit. Tersedia dari : <http://www.zymoresearch.com/dna/genomic-dna/cell-soft-tissue-dna/quick-dna-miniprep-plus-kit>. [Diakses 9 september 2017].