PERBEDAAN JARINGAN GRANULASI, ANGIOGENESIS DAN FIBROBLAS PADA LUKA BAKAR DERAJAT II ANTARA PEMBERIAN TOPIKAL SEL PUNCA MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA DENGAN KRIM *SILVER SULFADIAZINE* PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

(Skripsi)

Oleh:
NATASHA NAOMI HARLI PUTRI

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018

PERBEDAAN JARINGAN GRANULASI, ANGIOGENESIS DAN FIBROBLAS PADA LUKA BAKAR DERAJAT II ANTARA PEMBERIAN TOPIKAL SEL PUNCA MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA DENGAN KRIM *SILVER SULFADIAZINE* PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

Oleh
Natasha Naomi Harli Putri

Skripsi
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN

Pada

Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018

ABSTRACT

THE DIFFERENCE OF GRANULATION TISSUE, ANGIOGENESIS, AND FIBROBLAS ON 2nd DEGREE BURN WOUND BETWEEN THE TOPICAL ADMINISTRATION OF HUMAN UMBILICAL CORD MESENCHYMAL STEM CELLS AND *SILVER SULFADIAZINE IN WHITE RATS* (*Rattus norvegicus*)

By

NATASHA NAOMI HARLI PUTRI

Background: Burns are thermal injuries caused by biological, chemical, physical and electrical agents with local or systemic impacts. In Indonesia, burns cause about 195,000 deaths annually. Burns cause physical, psychological and economic harm. Management of burn wound may require surgical intervention, prolonged hospitalization and rehabilitation, as well as high health care costs. The goal of burn treatment is wound healing as soon as possible to prevent infection, reduce pain, and minimize long-term negative effects such as scarring and functional disturbances. Silver sulfadiazine is the gold standard of burn topical treatment with their antibacterial properties. However, there are some disadvantages of this drug. Therapies to treat skin diseases continue to develop for many years, for example using stem cells. Stem cell that usually used for treatment is mesenchymal stem cells, especially those derived from the human umbilical cord (WJMSC). These stem cells are known to have unique properties that can improve and accelerate wound healing.
Method: This was an experimental study using 27 *Sprague dawley* white male rats, grouped into nine different treatments. Group K: negative control, P1: mesenchymal stem cell, and P2: Silver Sulfadiazine. Each group was terminated on day 4, 14, and 28 to see the granulation tissue, angiogenesis, and fibroblasts on microscopic observations.
Result: The average score of granulation tissue on the 14th day was group K: 1.1, P1: 1.4, and P2: 1.4. Mean score of angiogenesis on day 14 of group K: 2,1, P1: 3,8, and P2: 3,4. Mean score of fibroblasts on the 14th day of group K: 2,1, P1: 3,8, and P2: 3,4.
Conclusion: There were significant differences in granulation tissue, angiogenesis, and fibroblasts on day 14.Nevertheless, there was no significant difference on day 4 and 28

Keywords: Silver Sulfadiazine, human umbilical cord mesenchymal stem cells, WJMSC, burn wound, wound healing

ABSTRAK

PERBEDAAN JARINGAN GRANULASI, ANGIOGENESIS DAN FIBROBLAS PADA LUKA BAKAR DERAJAT II ANTARA PEMBERIAN TOPIKAL SEL PUNCA MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA DENGAN KRIM *SILVER SULFADIAZIN* PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

Oleh

NATASHA NAOMI HARLI PUTRI

Latar Belakang: Luka bakar adalah luka termal yang disebabkan oleh agen biologis, kimiawi, fisik, dan listrik dengan dampak lokal maupun sistemik. Di Indonesia, luka bakar menyebabkan sekitar 195.000 kematian setiap tahunnya. Luka bakar menyebabkan kerugian fisik, psikologis dan ekonomi. Penanganan luka bakar sendiri dapat sampai memerlukan intervensi operasi/bedah, rawat inap dan rehabilitasi yang berkepanjangan, serta biaya perawatan kesehatan yang tinggi. *Silver sulfadiazine* merupakan terapi lini pertama atau *gold standard* dalam pengobatan topikal luka bakar dengan sifat antibakterinya. Namun, terdapat beberapa kelemahan dari obat ini. Pengembangan terapi untuk mengobati penyakit kulit telah dilakukan selama bertahun-tahun, salah satunya dengan sel punca. Salah satu jenis sel punca yang digunakan untuk terapi adalah sel punca mesenkimal, khususnya yang berasal dari tali pusat manusia (WJMSC). Sel punca ini diketahui memiliki sifat-sifat yang unik yang dapat meningkatkan penyembuhan luka.
Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan 27 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley* yang dikelompokkan menjadi sembilan perlakuan berbeda. Perlakuan dibagi atas kelompok K: kontrol negatif, P1: sel punca, dan P2: *Silver Sulfadiazine*. Tiap kelompok dieutanasia pada hari ke 4, 14, dan 28 untuk dilihat jaringan granulasi, angiogenesis, dan fibroblas pada pengamatan mikroskopisnya.
Hasil: Terdapat perbedaan bermakna jaringan granulasi, angiogenesis, dan fibroblas pada hari ke-14 dengan nilai p secara berurutan, 0,046; 0,034; dan 0,047. Rata-rata skor jaringan granulasi pada hari ke 14 kelompok K:1,1, P1: 1,4, dan P2: 1,4. Rata-rata skor angiogenesis pada hari ke- 14 kelompok K:2,1, P1: 3,8, dan P2: 3,4. Rata-rata skor fibroblas pada hari ke-14 kelompok K:2,1, P1: 3,8, dan P2: 3,4.
Simpulan: Terdapat perbedaan bermakna jaringan granulasi, angiogenesis, dan fibroblas pada hari ke-14.Selain itu, tidak dapat perbedaan yang bermakna pada hari ke-4 dan 28

Kata kunci: Siver Sulfadiazine, sel punca mesenkimal tali pusat manusia, WJMSC, luka bakar, penyembuhan luka.

Judul Skripsi	:	**PERBANDINGAN JARINGAN GRANULASI ANGIOGENESIS DAN FIBROBLAS PADA LUKA BAKAR DERAJAT II ANTARA PEMBERIAN TOPIKAL SEL PUNCA MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA DENGAN KRIM *SILVER SULFADIAZINE* PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**
Nama Mahasiswa	:	Natasha Naomi Harli Putri
Nomor Pokok Mahasiswa	:	1418011145
Program Studi	:	Pendidikan Dokter
Fakultas	:	Kedokteran

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

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

dr. Dwita Oktaria, S.Ked., M.Pd.Ked
NIP 19841015 201012 2 003

2. Dekan Fakultas Kedokteran

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

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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

Sekretaris : **dr. Dwita Oktaria, S.Ked., M.Pd.Ked** .....

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 : **30 Januari 2018**

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul "PERBEDAAN JARINGAN GRANULASI, ANGIOGENESIS DAN FIBROBLAS PADA LUKA BAKAR DERAJAT II ANTARA PEMBERIAN TOPIKAL SEL PUNCA MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA DENGAN KRIM *SILVER SULFADIAZINE* PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)" adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas penyataan ini, apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandarlampung, 30 Januari 2018

Pembuat pernyataan

Natasha Naomi Harli Putri

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Jakarta pada tanggal 11 November 1995. Penulis merupakan anak pertama dari 3 bersaudara dari pasangan Bapak Alm. Harris Simangunsong dan Ibu Anna Linda Siagian.

Penulis menempuh pendidikannya di Sekolah Dasar (SD) di SD Bunda Hati Kudus Cibubur tahun 2001-2007, Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Bunda Hati Kudus Cibubur tahun 2007-2010 dan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA Negeri 14 Jakarta tahun 2010-2013.

Tahun 2014, Penulis diterima sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) tertulis. Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif sebagai anggota Permako Medis FK Unila.

.

Kupersembahkan karya ini untuk

Tuhan Yesus Kristus

Juruselamatku, batu penjuruku, sumber kekuatanku,
penolongku, yang memampukanku dengan cara
ajaibNya untuk menyelesaikan karya ini

Ibu dan Alm. Ayah

Orangtua yang tidak pernah berhenti berjuang
untukku dan memberikan kasih sayang padaku

"Sesungguhnya, tangan Tuhan tidak kurang panjang
untuk menyelamatkan, dan pendengaran-Nya tidak
kurang tajam untuk mendengar"

Yesaya 59:1

SANWACANA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus yang telah memberikan kasih, berkat, dan anugerah kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.

Skripsi dengan judul "Perbedaan Jaringan Granulasi, Angiogenesis dan Fibroblas pada Luka Bakar Derajat II Antara Pemberian Topikal Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia dengan Krim *Silver Sulfadiazine* pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)" sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Universitas Lampung.

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

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 Pembimbing Akademik penulis yang senantiasa mendukung, membimbing, dan memotivasi penulis selama masa perkuliahan.
3. Dr. dr. Asep Sukohar, S.Ked., M.Kes., dr. Fitria Saftarina, S.Ked., M.Sc., dan dr. Betta Kurniawan, S.Ked., M.Kes selaku Wakil Dekan I, Wakil Dekan II, dan Wakil Dekan III Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

4. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc selaku pembimbing pertama atas kesediannya meluangkan waktu dan memberikan bimbingan, saran, dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi ini.
5. dr. Dwita Oktaria, S.Ked., M.Pd.Ked selaku pembimbing kedua atas kesediaannya meluangkan waktu dan memberikan bimbingan, saran, dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi ini.
6. dr. Dwi Indria Anggraini, S.Ked., M.Sc., Sp. KK selaku pembahas atas waktu, ilmu, saran, serta kritikan membangun yang telah diberikan dalam proses penyelesaian skripsi ini.
7. Ibu Nuriah dan Mba Yani selaku laboran Laboratorium Biologi Molekuler FK Unila, Mba Romi dan Mba Eka selaku laboran Laboratorium Mikrobiologi FK Unila, dan Mas Bayu selaku laboran Laboratorium Patologi Anatomi FK Unila yang telah dengan sabar menyediakan waktu, mendampingi, mengajari Penulis dan teman-teman selama penelitian.
8. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu, bimbingan, dan motivasi yang telah diberikan.
9. Seluruh staf dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas bantuan selama penulis menjalani masa perkuliahan.
10. Bapak Alm. Harris Simangunsong, S.E. dan Ibu dr. Anna Linda Siagian yang paling spesial dalam persembahan ini, orang tua penulis atas segala doa dan dukungan yang tidak pernah putus. Terima kasih atas perjuangan, kasih sayang, inspirasi, nasihat, dan arahan bagi Penulis untuk terus semangat dalam belajar dan mencapai cita-cita.

11. Adik tercinta Mayo dan Nuel yang selalu mendukung, memotivasi, menguatkan, menghibur, dan menjadi tempat cerita bagi penulis
12. Tulang Denny Daniel S., S.E., M.H. dan Nantulang Posma Veriyanne N., S.E. atas kebaikan, kesabaran, perhatian, dukungan, bantuan, dan nasihat yang diberikan untuk Penulis untuk terus dapat menempuh pendidikan ini. Serta adik terkasih Angel, Amanda, dan Andrew atas keceriaan dan dukungan yang diberikan.
13. Keluarga besar penulis tercinta atas doa dan dukungan moral yang telah diberikan kepada penulis.
14. Sahabat landasan terkasih, Gita, Cia, Tania dan Yona yang selalu ada dalam hari-hari di FK Unila, memberi canda tawa, dukungan, semangat, bantuan, inspirasi, doa, dan boleh menjadi tempat cerita serta sahabat untuk berbagi suka duka bersama Penulis.
15. Tim penelitian dan seperbimbingan skripsi, Ari, Titik, Kak Dina, Niken, Eka yang sudah saling membantu, mendukung, dan menjadi teman berbagi suka duka selama penulisan skripsi ini.
16. Febe, Sindi, Vevei, Karen, Grace, Olivia, Renti, Purnama, Keith, Bang Rian, Harry, Yosua, William, Theo, Devi, Eva, Cakra dan seluruh keluarga Permako Medis terimakasih telah menjadi teman sekaligus keluarga bagi Penulis serta menjadi teman cerita yang saling menguatkan.
17. Kakak Rohani, Ka Widi dan Teman Rohani, Ebet dan Fanya terima kasih atas kebersamaan, dukungan, perhatian, dan doa yang diberikan.
18. Sahabat dekat, Bang Josua yang boleh menemani, menjadi pendengar, memberi dukungan, keceriaan, bantuan, dan doa untuk Penulis.

19. Sahabat sekolah, Gomgom, Amanda, Egi, Martha, Babet, Ceper, Syera, Josi, Vidya, Cede, Natha, Rawi, dan Esther atas persahabatan bertahun-tahun, dukungan, dan doa yang diberikan.
20. Teman-teman angkatan 2014 (CRAN14L) yang tidak bisa disebutkan satu persatu, atas makna kebersamaan dan berbagi ilmu bersama.
21. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu yang telah memberikan bantuan dalam penulisan skripsi ini.

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

Bandarlampung, 30 Januari 2018

Penulis

Natasha Naomi Harli Putri

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI ..... **i**
DAFTAR TABEL ..... **iv**
DAFTAR GAMBAR ..... **vii**

BAB I PENDAHULUAN
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 5
1.3 Tujuan Penelitian 5
1.3.1 Tujuan Umum 5
1.3.2 Tujuan Khusus 5
1.4 Manfaat Penelitian 6
1.4.1 Manfaat bagi Penulis 6
1.4.2 Manfaat bagi Peneliti Lain 6
1.4.3 Manfaat bagi Instansi Terkait 6
1.4.4 Manfaat bagi Masyarakat 7

BAB II TINJAUAN PUSTAKA
2.1 Struktur dan Fungsi Kulit 8
2.1.1 Epidermis 10
2.1.2 Dermis 14
2.1.3 Jaringan Subkutan 14
2.1.4 Adneksa Kulit 15
2.2 Luka Bakar 16
2.2.1 Definisi 16
2.2.2 Klasifikasi Luka Bakar 17
2.2.3 Patofisiologi Luka Bakar 17
2.2.3 Penyembuhan Luka Bakar 19
2.3 *Silver Sulfadiazine* 26
2.4 Sel Punca 28
2.5 Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia 38
2.6 Gambaran Umum Hewan Coba 44
2.6 Kerangka Penelitian 46
2.6.1 Kerangka teori 46
2.6.2 Kerangka Konsep 47
2.7. Hipotesis 47

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian 48
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian 48
3.4 Subjek Penelitian 49
3.4.1 Populasi Penelitian 49
3.4.2 Sampel Penelitian 49
3.4.3 Kriteria Inklusi 50
3.4.4 Kriteria Eksklusi 50
3.4.5 Kriteria *Drop Out* 50
3.4.6 Teknik Pengambilan Sampel 50
3.5 Identifikasi Variabel Penelitian 51
3.5.1 Variabel Bebas 51
3.5.2 Variabel Terikat 51
3.6 Definisi Operasional Variabel Penelitian 51
3.7 Alat dan Bahan 53
3.7.1 Alat Penelitian 53
3.7.1 Bahan Penelitian 53
3.8 Prosedur Penelitian 54
3.8.1 Tahap Persiapan 54
3.8.2 Tahap Pengujian 57
3.8.3 Tahap Intepretasi Hasil 62
3.9 Alur Penelitian 64
3.10 Pengolahan dan Analisis Data 65
3.10.1 Pengolahan Data 65
3.10.2 Analisis Data 66
3.11 Kaji Etik 67

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Gambaran Umum Penelitian 68
4.2 Hasil Penelitian 69
4.1.1 Gambaran Mikroskopis 69
4.2 Perbedaan Jaringan Granulasi 72
4.2.1 Perbedaan Jaringan Granulasi pada Hari ke-4 73
4.2.2 Perbedaan Jaringan Granulasi pada Hari ke-14 75
4.2.2 Perbedaan Jaringan Granulasi pada Hari ke-28 77
4.3 Angiogenesis 78
4.3.1 Perbedaan Angiogenesis pada Hari ke-4 79
4.3.2 Perbedaan Angiogenesis pada Hari ke-14 80
4.3.3 Perbedaan Angiogenesis pada Hari ke-28 82
4.4 Fibroblas 83
4.4.1 Perbedaan Fibroblas pada Hari ke-4 84
4.4.2 Perbedaan Fibroblas pada Hari ke-14 85
4.4.3 Perbedaan Fibroblas pada Hari ke-28 87
4.5 Pembahasan 88
4.6 Keterbatasan Penelitian 98

BABA V SIMPULAN DAN SARAN 99
5.1 Simpulan 99
5.2 Saran 100
5.2.1 Bagi Peneliti Lain 100

DAFTAR PUSTAKA 101

DAFTAR TABEL

Tabel Halaman

Tabel 1. Definisi operasional.....51

Tabel 2. Gambaran Mikroskopis Jaringan Granulasi, Angiogenesis, dan Fibroblas Hari ke-4.....70

Tabel 3. Gambaran Mikroskopis Jaringan Granulasi, Angiogenesis, dan Fibroblas Hari ke-14.....71

Tabel 4. Gambaran Mikroskopis Jaringan Granulasi, Angiogenesis, dan Fibroblas Hari ke-28.....72

Tabel 5. Perbedaan Rerata dan Uji *Kruskal-Wallis* Skor Jaringan Granulasi Hari Ke-4.....74

Tabel 6. Perbedaan Rerata dan Uji *Kruskal-Wallis* Skor Jaringan Granulasi Hari Ke-14.....75

Tabel 7. Uji *Post Hoc Mann-Whitney* Jaringan Granulasi Hari Ke-14.....76

Tabel 8. Perbedaan Rerata dan Uji *Kruskal-Wallis* Skor Jaringan Granulasi Hari Ke-28.....77

Tabel 9. Perbedaan Rerata dan Uji *Kruskal-Wallis* Skor Angiogenesis Hari Ke-4 79

Tabel 10. Perbedaan Rerata Dan Uji *Kruskal-Wallis* Skor Angiogenesis Hari Ke-14 80

Tabel 11. Uji *Mann-Whitney* Angiogenesis Hari Ke-14 81

Tabel 12. Perbedaan Rerata dan Uji *Kruskal-Wallis* Skor Angiogenesis Hari Ke-28 82

Tabel 13. Perbedaan Rerata dan Uji *Kruskal-Wallis* Skor Fibroblas Hari Ke-4 ... 84

Tabel 14. Perbedaan Rerata Dan Uji *Kruskal-Wallis* Skor Fibroblas Hari Ke-14 85

Tabel 15. Uji *Post* Hoc *Mann-Whitney* Skor Fibroblas Hari Ke-14 86

Tabel 16. Perbedaan Rerata dan Uji *Kruskal-Wallis* Skor Fibroblas Hari Ke-28 87

DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman

Gambar 1. Ilustrasi diagramatik dari penampang melintang tali pusat manusia ... 42

Gambar 2. Kerangka teori ... 46

Gambar 3. Kerangka konsep ... 47

Gambar 4. Alur Penelitian ... 64

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka bakar adalah luka termal yang disebabkan oleh agen biologis, kimiawi, fisik, dan listrik dengan dampak lokal maupun sistemik (Garcia-Espinoza *et al.*, 2017). Luka bakar masih merupakan salah satu keadaan darurat yang dapat terjadi di semua kelompok usia, laki-laki dan perempuan, pada negara maju maupun negara berkembang, serta memiliki angka kejadian morbiditas dan mortalitas yang tinggi (Mehrabani *et al.*, 2015; Saeidinia, *et al.*, 2017). Selain itu luka bakar juga menempatkan 1% pada beban penyakit global, menyebabkan lebih dari 7,1 juta cedera, hilangnya hampir 18 juta *disability-adjusted life years* (DALY-s), dan lebih dari 265.000 kematian di seluruh dunia setiap tahunnya (World Health Organisation, 2014; Elsous *et al.*, 2016). Di Indonesia, luka bakar menyebabkan sekitar 195.000 kematian setiap tahunnya. Rumah Sakit Umum Cipto Mangunkusumo (pusat rujukan nasional untuk luka bakar di Indonesia) telah menerima 130 pasien setiap tahunnya dari seluruh penjuru negeri, terutama pasien luka bakar yang parah (Wardhana *et al.*, 2017). Hasil RISKESDAS 2013 mengungkapkan bahwa luka bakar berada pada peringkat ke-6 dalam cedera yang tidak disengaja dengan total 0,7% dari seluruh cedera (Departemen Kesehatan RI, 2013).

Luka bakar menyebabkan kerugian fisik, psikologis dan ekonomi. Penanganan luka bakar sendiri dapat sampai memerlukan intervensi operasi/bedah, rawat inap dan rehabilitasi yang berkepanjangan, serta biaya perawatan kesehatan yang tinggi. Tidak hanya fatal bagi pasien sendiri karena dapat menyebabkan kematian, luka bakar juga memberi beban finansial yang luar biasa ke sistem kesehatan masyarakat karena besarnya sumber daya yang dibutuhkan untuk perawatannya. Status sosioekonomi rendah, miskin, buta huruf, dan, kepadatan penduduk juga merupakan faktor risiko yang sering dikaitkan dengan kejadian luka bakar (Aramwit *et al.*, 2013; Wardhana *et al.*, 2017).

Temuan di atas menunjukkan betapa pentingnya penatalaksanaan yang tepat bagi penderita luka bakar. Tujuan dari pengobatan luka bakar adalah penyembuhan luka sesegera mungkin untuk mencegah infeksi, mengurangi rasa sakit, dan meminimalkan efek negatif jangka panjang seperti jaringan parut dan ganggguan fungsional (Rashaan *et al.*, 2014).

Luka bakar derajat II atau *partial-thickness burn* merupakan salah satu kejadian yang paling sering di lingkungan rumah tangga dan membutuhkan pengobatan yang adekuat untuk mencegah komplikasi yang dapat timbul (Saeidinia, 2017). Selama bertahun-tahun luka bakar ini dirawat dengan mencuci dan membersihkan luka setiap hari dan diikuti oleh aplikasi krim antimikroba topikal. *Silver sulfadiazine* merupakan terapi lini pertama atau *gold standard* dalam pengobatan topikal luka bakar dengan sifat antibakterinya. Namun, terdapat beberapa kelemahan dari obat ini, yaitu

penyembuhan luka yang lambat, epitelisasi yang tidak lengkap dan lambat, adanya bekas luka hitam atau hiperpigmentasi kulit, penetrasi yang terbatas pada luka, hipersensitivitas, neutropenia, toksisitas dari *silver*, dan resistensi bakteri (Hosseini *et al.*, 2007; Amiri *et al.*, 2017; Saeidinia *et al.*, 2017). *Silver sulfadiazine* juga dikontraindikasikan bagi wanita hamil dan menyusui serta bayi baru lahir (Genuino *et al.*, 2014). Karena itu, penelitian mengenai obat untuk luka bakar terus berkembang untuk menemukan obat baru dengan efikasi yang lebih besar dan efek samping minimal.

Pengembangan terapi untuk mengobati penyakit kulit telah dilakukan selama bertahun-tahun, salah satunya dengan sel punca. Sejak tahun 1950-an, sel punca mulai menarik minat peneliti di seluruh dunia. Sel punca itulah yang berperan sebagai awal mula pertumbuhan sel dalam menyusun tubuh manusia secara keseluruhan. Agar dapat disebut sebagai sel punca, terdapat karakteristik yang mesti dipenuhi yaitu belum berdiferensiasi, mampu memperbanyak diri, dan dapat berdiferensiasi menjadi lebih dari satu jenis sel (multipoten/pluripotent). Salah satu jenis sel punca yang digunakan untuk terapi adalah sel punca mesenkimal. Sel punca mesenkimal terdapat di seluruh organ tubuh terutama di daerah perivaskuler. Terdapat beberapa sumber sel punca mesenkimal terbanyak yaitu jaringan adiposa, darah tali pusat, tali pusat (*wharthon's jelly*), dan sumsum tulang. Sel punca ini dapat berdiferensiasi menjadi sel adipogenik, miogenik, kardiomiogenik, kondrogenik, dan osteogenik (Amin, 2007). Sel punca mesenkimal tali pusat manusia mudah

diperoleh dan tidak dihadapkan pada masalah etik, serta mengandung sel punca multipoten dengan imunogenisitas rendah (Moenadjat, *et al.*, 2013).

Kebutuhan terapi sel dalam dermatologi terutama dalam penyembuhan luka. Penelitian yang dilakukan dengan penggunaan sel punca mesenkimal yang berasal dari sumsum tulang dilaporkan telah berhasil dalam mengobati penderita ulkus diabetikum dan luka bakar kulit yang parah (40% permukaan tubuh) (Khosrotehrani, 2013). Penelitian yang dilakukan oleh (Arno *et al.*, 2014) melaporkan adanya mekanisme sinyal parakrin, seperti pelepasan faktor yang meningkatkan angiogenesis, imunomodulasi, perekrutan dan diferensiasi sel progenitor merupakan mekanisme yang mungkin mendasari efek positif sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada penyembuhan luka. Selain itu, Penelitian eksperimental yang dilakukan oleh (Nur, 2017) di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melaporkan bahwa pemberian topikal sel punca mesenkimal tali pusat manusia menimbulkan percepatan penyembuhan luka pada tikus putih jantan.

Berdasarkan penjelasan diatas, peneliti tertarik untuk mempelajari perbedaan jaringan granulasi, angiogenesis, dan fibroblas pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan krim *silver sulfadiazine* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan sebuah masalah, yaitu apakah terdapat perbedaan jaringan granulasi, angiogenesis, dan fibroblas dan pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan krim *silver sulfadiazin* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui perbedaan jaringan granulasi, angiogenesis, dan fibroblas dan pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan krim *silver sulfadiazine* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)

1.3.2 Tujuan Khusus

Adapun tujuan khusus dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui perbedaan jaringan granulasi, angiogenesis, dan fibroblas dan pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan krim *silver sulfadiazine* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada hari ke-4
2. Mengetahui perbedaan jaringan granulasi, angiogenesis, dan fibroblas dan pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan krim *silver sulfadiazine* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada hari ke-14.

3. Mengetahui perbedaan jaringan granulasi, angiogenesis, dan fibroblas dan pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan krim *silver sulfadiazine* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada hari ke-28.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat bagi Penulis

Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi ilmiah terhadap perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya mengenai manfaat sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap penyembuhan luka bakar.

1.4.2 Manfaat bagi Peneliti Lain

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

1.4.3 Manfaat bagi Instansi Terkait

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

1.4.4 Manfaat bagi Masyarakat

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

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Struktur dan Fungsi Kulit

Kulit adalah organ tunggal yang terberat di tubuh, yang biasanya membentuk 15-20% berat badan total dan pada orang dewasa, memiliki luas permukaan sebesar 1,5-2 m^2 yang terpapar dengan dunia luar. Kulit merupakan organ istimewa pada manusia. Berbeda dengan organ lain, kulit terletak pada sisi terluar manusia. Dari kulit, muncul berbagai aksesori manusia; rambut (kasar dan halus), kuku, dan kelenjar (sekretnya terurai oleh mikroorganisme dan keluarlah bau) (Rihatmadja, 2015; Mescher, 2014).

Kulit (dan adneksa) menjalankan berbagai tugas dalam memelihara kesehatan manusia secara utuh yang meliputi fungsi, yaitu: (Rihatmadja, 2015)

a. Perlindungan fisik (terhadap gaya mekanik, sinar ultraviolet, bahan kimia)
b. Perlindungan imunologik
c. Ekskresi
d. Pengindera
e. Pengaturan suhu tubuh
f. Pembentukan vitamin D
g. Kosmetis

Fungsi-fungsi tersebut secara spesifik juga dapat terbagi menjadi sejumlah kategori umum, yaitu: (Mescher, 2014)

a. Protektif

   Kulit menyediakan sawar fisis terhadap rangsang termal dan mekanis seperti gaya gesekan dan kebanyakan patogen potensial dan materi lain. Mikroorganisme yang mempenetrasi kulit memberi peringatan limfosit dan sel penyaji-antigen di kulit dan respon imun meningkat. Pigmen melanin gelap di epidermis melindungi sel dari radiasi ultraviolet. Kulit juga merupakan sawar permeabel terhadap kehilangan atau ambilan air yang berlebihan, yang memungkinkan kehidupan di muka bumi. Permeabilitas kulit selektif memungkinkan sejumlah obat lipofilik seperti hormon steroid tertentu dan obat-obatan yang diberikan melalui koyo.

b. Sensorik

   Banyak tipe reseptor sensorik yang memungkinkan kulit memantau lingkungan dan berbagai mekanoreseptor dengan lokasi spesifik di kulit penting untuk interaksi tubuh dengan objek fisis.

c. Termoregulatorik

   Temperatur tubuh yang konstan normalnya lebih mudah dipertahankan berkat komponen insulator kulit (misalnya, lapisan lemak dan rambut di kepala) dan mekanismenya untuk mempercepat pengeluaran panas (produksi keringat dan mikrovaskular superfisial yang padat)

d. Metabolik

   Sel kulit mensintesis vitamin D_3, yang diperlukan pada metabolisme kalsium dan pembentukan tulang secara tepat melalui kerja sinar UV

setempat pada prekursor vitamin ini. Kelebihan elektrolit dapat dihilangkan melalui keringat dan lapisan subkutan menyimpan sejumlah energi dalam bentuk lemak.

e. Sinyal seksual

Banyak gambaran kulit, seperti pigmentasi dan rambut, adalah indikator visual kesehatan yang terlibat dalam ketertarikan antara jenis kelamin pada semua spesies vertebra, termasuk manusia. Efek feromon seks yang dihasilkan kelenjar keringat apokrin dan kelenjar lain di kulit juga penting untuk ketertarikan tersebut.

Selain dikenal sebagai lapisan kutaneus atau integumen, kulit terdiri atas epidermis, yaitu lapisan epitel yang berasal dari ektoderm dan dermis, suatu lapisan jaringan ikat yang berasal dari mesoderm. Turunan epidermis meliputi rambut, kuku, kelenjar sebasea dan kelenjar keringat. Di bawah dermis terdapat hipodermis atau jaringan subkutan, yaitu jaringan ikat longgar yang dapat mengandung bantalan adiposit. Jaringan subkutan mengikat kulit secara longgar pada jaringan di bawahnya dan sesuai dengan fasia superfisial pada anatomi makro (Mescher, 2014). Dalam menjalankan berbagai fungsi di atas, lapisan kulit tersebut bertindak sebagai satu kesatuan yang terkait satu dengan yang lain (Rihatmadja, 2015).

2.1.1 Epidermis

Lapisan epidermis adalah lapisan kulit dinamis, senantiasa beregenerasi, berespons terhadap ransangan di luar maupun dalam

tubuh manusia. Tebalnya bervariasi antara 0,4-1,5 mm. Rata-rata epidermis mengganti dirinya sendiri setiap sekitar dua setengah bulan (Rihatmadja, 2015). Lapisan epidermis bagian dalam terdiri dari sel-sel berbentuk kubus yang hidup dan cepat membelah, sementara sel-sel di lapisan luar mati dan gepeng. Epidermis tidak memiliki aliran darah langsung. Sel-selnya mendapat makanan hanya melalui difusi dari jaringan vaskular padat dermis di bawahnya. Sel-sel yang baru terbentuk di lapisan dalam terus mendorong sel-sel tua mendekati permukaan, semakin jauh dari pasokan nutriennya (Sherwood, 2011). Epidermis terutama terdiri atas epitel berlapis gepeng berkeratin yang disebut keratinosit. Tiga jenis sel epidermis yang jumlahnya lebih sedikit juga ditemukan, yaitu melanosit, sel Langerhans penyaji-antigen, dan sel Merkel atau sel taktil epitelial (Mescher, 2014)**.** Keratinosit tersusun dalam beberapa lapisan. Susunan epidermis yang berlapis-lapis ini menggambarkan proses diferensiasi (keratinisasi) yang dinamis, yang tidak lain berfungsi menyediakan sawar kulit pelindung tubuh dari ancaman di permukaan (Rihatmadja, 2015). Dari dermis ke atas, epidermis terdiri atas lima lapisan keratinosit, kelima lapisan di kulit tebal, yaitu: (Mescher, 2014)

a. Lapisan Basal (Stratum Basale)

   Terdiri atas selapis sel kuboid atau kolumnar basofilik yang atas membran basal pada perbatasan epidermis-dermis. Keratinositnya berjajar di atas lapisan struktural yang disebut *basal membrane zone* (BMZ). Keratinosit basal berdiri kokoh diatas BMZ karena

protein struktural yang ‘memaku’ membran sitoplasma keratinosit pada BMZ yang disebut hemidesmosom. Terdapat tiga subpopulasi keratinosit di stratum basalis, yaitu sel punca (*stem cells*), *transient amplifying cells* (TAC), sel pascamitosis (*post mitotic cells*). Stratum basale ditandai dengan tingginya aktivitas mitosis dan bertanggung jawab, bersama dengan bagian awal lapisan berikutnya atas produksi sel-sel epidermis secara berkesinambungan. Semua keratinosit dalam stratum basale mengandung filamen keratin intermediat yang terdiri atas keratin. Sitoplasma keratinosit banyak mengandung melanin, pigmen warna yang tersimpan di dalam melanosom. Melanin yang tersebar dalam keratinosit memberikan warna secara keseluruhan pada kulit seseorang (Mescher, 2014; Rihatmadja 2015).

b. Lapisan Spinosum (Stratum Spinosum)

Normalnya merupakan lapisan epidermis paling tebal, terdiri atas sel-sel kuboid atau agak gepeng dengan inti di tengah dengan nukleolus dan sitoplasma yang aktif menyintesis filamen keratin. Keratinosit stratum spinosum memiliki bentuk poligonal, berukuran lebih besar daripada keratinosit stratum basal. Pada pemeriksaan mikroskopik terlihat struktur mirip taji (spina) pada permukaan keratinosit yang disebut desmosom. Desmosom terdiri dari berbagai protein struktural, misalnya desmoglein dan desmokolin. Struktur ini memberi kekuatan pada epidermis untuk

menahan trauma fisis di permukaan kulit (Mescher, 2014; Rihatmadja, 2015).

c. Lapisan Granular (Stratum Granulosum)

Terdiri atas 3-5 lapis sel poligonal gepeng yang mengalami diferensiasi terminal. Keratinosit stratum granulosum mengandung *keratohyaline granules* (KG) yang terlihat pada pemeriksaan mikroskopik biasa. KG mengandung profilagrin dan loricrin yang penting dalam bentukan *cornified cell envelope* (CCE) (Mescher, 2014; Rihatmadja, 2015).

d. Stratum Lusidum

Hanya dijumpai kulit tebal, dan terdiri atas lapisan tipis translusen sel eosinofilik yang sangat pipih. Organel dan inti telah menghilang dan sitoplasma hampir sepenuhnya terdiri atas filamen keratin padat yang berhimpitan dalam matriks padat-elektron. Desmosom masih tampak di antara sel-sel yang bersebelahan (Mescher, 2014).

e. Stratum Korneum

Terdiri atas 15-20 lapis sel gepeng berkeratin tanpa inti dengan sitoplasma yang dipenuhi keratin filamentosa birefringen. Korneosit lebih berperan dalam memberi penguatan terhadap trauma mekanis, produksi sitokin yang memulai proses peradangan serta perlindungan terhadap sinar ultraviolet. Waktu yang diperlukan bagi korneosit untuk melepaskan diri (*shedding*) dari epidermis kira-kira 14 hari (Mescher, 2014; Rihatmadja, 2015).

2.1.2 Dermis

Di bawah epidermis terdapat dermis, suatu lapisan jaringan ikat yang mengandung banyak serat elastin (untuk peregangan) dan serat kolagen (untuk kekuatan), serta banyak pembuluh darah dan ujung saraf khusus. Dermis adalah jaringan ikat yang menunjang epidermis dan mengikatnya pada jaringan subkutan (hipodermis). Dermis juga memberi ketahanan pada kulit, termoregulasi, perlindungan imunologik, dan ekskresi. Fungsi-fungsi tersebut mampu dilaksanakan dengan baik karena berbagai elemen yang berada pada dermis, yakni struktur fibrosa dan filamentosa, *ground substance*, dan selular yang terdiri atas endotel, fibroblas, sel radang, kelenjar, folikel rambut dan saraf. Serabut kolagen (*collagen bundles*) membentuk sebagian besar dermis, bersama-sama serabut elastik memberikan kulit kekuatan dan elastisitasnya. Fibroblas, makrofag, dan sel mast rutin ditemukan pada dermis. Fibroblas adalah sel yang memproduksi protein matriks jarigan ikat dan serabut kolagen serta elastik di dermis (Mescher, 2014; Rihatmadja, 2015; Sherwood, 2011).

2.1.3 Jaringan Subkutan

Lapisan subkutan terdiri atas jaringan ikat longgar yang mengikat kulit secara longgar pada organ-organ di bawahnya, yang memungkinkan kulit bergeser di atasnya. Lapisan ini disebut juga hipodermis. Sebagian besar sel lemak terdapat di dalam hipodermis. Endapan lemak di seluruh tubuh ini secara kolektif disebut sebagai jaringan adiposa.

Suplai vaskular yang luas di lapisan subkutan meningkatkan ambilan insulin dan obat yang disuntikkan ke dalam jaringan ini secara cepat (Mescher, 2014; Sherwood, 2011).

2.1.4 Adneksa Kulit

Berikut ini yang tergolong dalam adneksa kulit adalah rambut, kelenjar ekrin dan apokrin, serta kuku. Folikel rambut sering disebut sebagai unit pilosebasea karena terdiri atas bagian rambut dan kelenjar sebasea yang bermuara ke bagian folikel rambut yang disebut ismus. Unit pilosebasea pada aksila dan inguinal mengandung kelenjar apokrin, dan pada dada, punggung atas dan wajah memiliki kelenjar sebasea yang besar (Rihatmadja, 2015).

Lipatan-lipatan epidermis yang masuk ke dermis di bawahnya membentuk kelenjar eksokrin kulit – kelenjar keringat dan kelenjar sebasea – serta folikel rambut (Sherwood, 2011).

a. Kelenjar Keringat

Kelenjar keringat adalah derivat epitel yang tertanam di dermis yang membuka ke permukaan kulit. Kelenjar keringat tersebar hampir di seluruh tubuh. Kelenjar ini mengeluarkan larutan garam encer melalui lubang-lubang kecil, pori keringat, ke permukaan kulit. Penguapan keringat ini mendinginkan kulit dan penting dalam mengatur suhu (Mescher, 2014; Sherwood, 2011).

b. Kelenjar Sebasea

Kelenjar sebasea terbenam dalam dermis pada sebagian besar permukaan tubuh, kecuali kulit tebal yang tidak berambut di telapak tangan dan telapak kaki. Terdapat sekitar 100 kelenjar per sentimeter persegi, tetapi jumlah ini bertambah mencapai 400-900/cm^2 di bagian muka dan kulit kepala. Kelenjar sebasea merupakan kelenjar asinar bercabang dengan sejumlah asini yang bermuara ke dalam saluran pendek dan biasanya berakhir di bagian atas folikel rambut. Sel-sel kelenjar sebasea menghasilkan sebum, suatu sekresi berminyak yang dikeluarkan ke dalam folikel rambut (Mescher 2014; Sherwood, 2011).

c. Folikel Rambut

Setiap folikel rambut dilapisi oleh sel-sel penghasil keratin khusus, yang mengeluarkan keratin dan protein lain yang membentuk batang rambut (Sherwood, 2011). Folikel rambut merupakan invaginasi epitel epidermis yang merupakan asal dari struktur berkeratin panjang yang disebut rambut (Mescher, 2014).

2.2 Luka Bakar

2.2.1 Definisi

Luka bakar adalah luka termal yang disebabkan oleh agen biologis, kimiawi, listrik, dan agen fisik yang dapat menimbulkan dampak lokal dan sistemik (Rashaan *et al.*, 2014). Luka bakar atau luka termal terjadi

bila beberapa atau semua sel di kulit atau jaringan lainnya dihancurkan oleh cairan panas, benda padat yang panas, atau api (WHO, 2017).

2.2.2 Klasifikasi Luka Bakar

Luka bakar dapat diklasifikasikan menurut tipenya, yaitu termal, kimiawi, listrik, atau radiasi. Tingkat keparahan luka biasanya digambarkan melalui persentasi dari seluruh permukaan tubuh yang terkena (% *Total Body Surface Area*). Luka bakar juga dapat diklasifikasikan melalui kedalamannya, yaitu luka bakar derajat I (*superficial*) yang mengenai sampai epidermis, derajat II (*partial*) yang mengenai epidermis dan dermis, serta derajat III (*full thickness*) yang mengenai epidermis, dermis, subkutan, dan/atau otot (Schaefer & Szymanski, 2017).

2.2.3 Patofisiologi Luka Bakar

Edema yang terbentuk di ruang interstisial terbentuk dengan cepat dalam 8 jam pertama setelah luka bakar terjadi dan terus terbentuk dengan lebih lambat dalam minimal 18 jam. Syok akibat luka bakar dapat terjadi ditandai dengan peningkatan permeabilitas kapiler, tekanan hidrostatik sepanjang mikrovaskular, pergerakan protein dan cairan dari ruang intravaskular ke ruang interstisial, resistensi vaskular sistemik, pengurangan curah jantung, dan hipovolemia yang membutuhkan resusitasi cairan. Persyaratan volume untuk resusitasi dapat diperkirakan dengan mengukur ukuran total luka bakar dan berat

badan pasien (atau luar permukaan tubuh) (Borelli, Plewig and Degitz, 2005) (Rowan, *et al.*, 2015).

Daerah lesi pada luka bakar dapat dibagi menjadi tiga zona berdasarkan tingkat keparahan kerusakan jaringan dan perubahan aliran darah. Bagian tengah luka dikenal sebagai zona koagulasi yang merupakan bagian terbesar yang terpapar oleh panas dan menderita kerusakan paling banyak. Protein mengalami denaturasi pada suhu 41^{o}C, sehingga panas yang berlebihan di tempat cedera menyebabkan denaturasi protein yang berlebihan, degradasi, dan koagulasi, yang menyebabkan nekrosis jaringan. Pada sekitar bagian tengah zona koagulasi, terdapat zona stasis atau zona iskemik, yang ditandai dengan penurunan perfusi jaringan dan terdapat jaringan yang berpotensi untuk masih bisa diselamatkan. Pada zona ini, hipoksia dan iskemia dapat menyebabkan nekrosis jaringan dalam 48 jam pertama karena tidak adanya penanganan yang dilakukan. Mekanisme dari apoptosis dan nekrosis pada zona iskemik sendiri masih belum dapat dimengerti dengan baik, namun tampaknya melibatkan autofagi dalam 24 jam pertama setelah cedera dan apoptosis yang tertunda sekitar 24-48 jam setelah cedera. Stres oksidatif juga mungkin berperan dalam nekrosis yang terjadi. Daerah terluar lesi ini adalah zona hiperemis, yang menerima peningkatan aliran darah melalui inflamasi dan vasodilatasi pembuluh darah (Rowan *et al.*, 2015).

2.2.3 Penyembuhan Luka Bakar

Meskipun luka bakar berbeda dengan luka lainnya di beberapa hal, misalnya pada tingkat peradangan sistemik, penyembuhan semua luka ini merupakan proses yang dinamis dengan fase yang tumpang tindih.

Fase ini terdiri dari fase inflamasi, proliferasi, dan maturasi atau *remodelling* (Rowan *et al.*, 2015). Fase-fase ini lebih lengkapnya dijelaskan di bawah ini:

a. Fase Inflamasi

Reaksi inflamasi awal membawa neutrofil dan monosit ke lokasi cedera melalui vasodilatasi lokal dan ekstravasasi cairan. Penelitian yang dilakukan oleh (Vidinsk *et al.*, 2006) tentang luka insisional pada tikus dilaporkan telah memasuki fase inflamasi pada 24 jam pertama setelah perlukaan yang ditandai dengan adanya reaksi inflamasi yang dominan, infiltrasi sel radang, dan jaringan fibrin yang mengisi daerah insisi. Pada reaksi inflamasi vaskular, kontraksi pembuluh darah yang mengalami cedera dan koagulasi darah turut berperan dalam mempertahankan integritas daerah lesi. Koagulasi darah terdiri dari agregasi trombosit dan platelet pada jaringan fibrin. Jaringan fibrin ini akan mengembalikan kembali homeostasis, membentuk penghalang bagi invasi mikroorganisme, dan mengatur matriks sementara yang diperlukan untuk migrasi sel, yang pada gilirannya mengembalikan fungsi kulit sebagai pelindung dan menjaga integritas kulit itu sendiri. Hal ini juga memungkinkan bagi sel untuk bermigrasi ke daerah *microenvironment* dari lesi dan

menstimulasi proliferasi fibroblas. Respon sel pada fase inflamasi ditandai oleh influks leukosit di daaerah luka, yang ditandai dengan edema dan eritema di daerah tersebut. Normalnya, respon sel ini terjadi dalam 24 jam pertama dan dapat berlangsung selama 2 hari. Terdapat aktivasi dari sel imun pada jaringan, seperti mastosit, sel gamma-delta, dan sel langerhans yang mensekresikan kemokin dan sitokin. Sel-sel inflamasi ini berperan dalam penyembuhan luka dan berkontribusi dalam pelepasan enzim lisosom dan *reactive oxygen species* (ROS) sehingga memudahkan pembersihan debris sel. Dalam beberapa jam pertama, neutrofil bermigrasi ke daerah lesi karena diaktivasi oleh sitokin proinflamasi, yaitu IL-1 β, TNF-α, dan IFN-γ. Sitokin ini meningkatkan ekspresi molekul adhesi untuk diapedesis neutrofil, seperti selektin dan integrin. Setelah 48 jam, monosit yang juga bermigrasi ke daerah lesi, diperbanyak, dan berdiferensiasi menjadi makrofag. Hal ini diaktivasi oleh sinyal kemokin. Makrofag ini melepaskan faktor pertumbuhan, seperti PDGF dan VEGF, yang umumnya dibutuhkan untuk memicu pembentukkan jaringan baru pada daerah lesi. Makrofag melakukan fagositosis dan produksi serta pelepasan sitokin, faktor pro-angiogenik, proinflamasi, faktor fibrogenik, dan radikal bebas. Selain itu, makrofag juga memproduksi prostaglandin yang berfungsi sebagai vasodilator kuat, yang mempengaruhi permeabilitas mikrovaskular dan menyebabkan aktivasi dari sel endotel yang memproduksi PDGF, TGF β, FGF, dan VEGF yang

merupakan sitokin utama yang mampu merangsang pembentukkan jaringan granulasi. Fase inflamasi dapat terjadi tumpang tindih dengan fase proliferasi yang ditandai oleh aktivasi keratinosit dan fibroblas oleh sitokin dan faktor pertumbuhan (*growth factor*) (Rowan, *et al.*, 2015; Gonzalez, *et al.*, 2016).

b. Fase Proliferasi

Tujuan dari fase proliferasi adalah untuk mengurangi daerah lesi dengan kontraksi dan fibroplasia serta membangun barier epitel untuk aktivasi keratinosit. Tahap ini bertanggung jawab atas penutupan luka itu sendiri, yang meliputi angiogenesis, fibroplasia, dan reepitelisasi. Proses ini dimulai pada daerah *microenvironment* lesi dalam 48 jam pertama dan dapat berlansung sampai 14 hari berikutnya atau lebih (Gonzalez *et al.*, 2016). Penyembuhan luka pada tikus dengan luka insisional (*long parallel full thickness skin incisions*) dilaporkan telah memasuki fase proliferasi pada hari ketiga dan puncaknya terlihat pada hari kelima yang ditandai dengan terdapatnya reepitelisasi komplit, proliferasi fibroblas dan angiogenesis yang ekstensif pada jaringan granulasi yang terbentuk (Vidinsk *et al.*, 2006). Penelitian yang dilakukan (Pereira *et al.*, 2012) pada tikus dengan luka bakar derajat II dilaporkan telah memasuki fase proliferasi pada hari ke-14 yang ditandai dengan angiogenesis, proliferasi fibroblas, dengan serat kolagen longgar. Angiogenesis adalah proses terkoordinasi yang melibatkan proliferasi seluler endotel, ruptur dan penataan ulang membran

basal, migrasi dan asosiasi dalam struktur tubular, serta rekrutmen sel perivaskular. Perkembangan selanjutnya dari pembuluh darah disebabkan oleh produksi vena kolateral melalui 2 mekanisme, yaitu germinasi dan pembelahan sel. Pembuluh darah yang baru ini memungkinkan untuk pengangkutan oksigen, nutrisi, dan sel imun ke stroma. Jaringan granulasi mulai terbentuk kira-kira 4 hari setelah terjadi lesi. Nama "jaringan granulasi" berasal dari tampilan granular dari jaringan yang beru terbentuk. Jaringan granulasi terbentuk melalui mekanisme berikut: peningkatan proliferasi fibroblas, biosintesis kolagen dan elastin, yang menciptakan jaringan ikat ekstraseluler tiga dimensional, dan produksi faktor kemotaksis dan IFN β oleh fibroblas. Fibroplasia sendiri dimulai dengan pembentukkan jaringan granulasi yang ditandai dengan proliferasi fibroblas. Komponen utama dari jaringan ikat *mature* yang merupakan jaringan *scar* adalah kolagen. Fibroblas merupakan produsen dari kolagen, direkrut dari dermis pada perbatasan luka untuk mensintesis protein ini. Pembentukkan membran basal yang utuh antara epidermis dan dermis sangat penting untuk membangun kembali integritas dan fungsinya. Selama tahap awal perbaikan ini, kolagen tipe III dominan, disintesis oleh fibroblas pada jaringan granulasi. Kontraksi luka juga dimulai pada tahap ini yang dilakukan oleh fibroblas, yang kaya akan aktin alfa otot polos, yang dikenal sebagai miofibroblas. Sel-sel ini terakumulasi pada batas luka, melakukan kontraksi dan menyatukan batas-batas luka

tersebut untuk menyatu di tengah. Sejalan dengan semua peristiwa yang disebutkan di atas, epitel, melalui sitokin spesifik, berproliferasi dan bermigrasi dari batas luka sebagai usaha untuk menutup luka. Hal ini disebut juga sebagai re-epitelisasi. Re-epitelisasi luka oleh keratinosit dilakukan dengan kombinasi fase proliferasi dengan migrasi sel-sel yang berada dekat lesi. Sel epidermal dari folikel rambut dengan cepat menghilangkan koagulasi dan stroma yang rusak. Epidermal sel dari folikel rambut ini dilaporkan berperan sebagai reservoir bagi keratinosit dalam proses penyembuhan luka. Tumpang tindih dengan fase proliferasi, dapat terjadi fase *remodelling*. Pada fase *remodelling* jaringan parut matur terdiri dari kolagen dan elastin yang disimpan dan terdapat perubahan fibroblas menjadi miofibroblas (Rowan, *et al.*, 2015; Gonzalez, *et al.*, 2016).

c. Fase *Remodelling*

Fase ketiga dari penyembuhan luka adalah fase *remodelling* yang dimulai pada minggu ke-2 sampai ke-3 setelah terjadi lesi dan bisa bertahan selama satu tahun atau lebih (Gonzalez *et al.*, 2016). Penyembuhan luka pada tikus dengan luka insisional (*long parallel full thickness skin incisions*) dilaporkan telah memasuki fase *remodelling* pada hari ke-6 yang ditandai dengan terdapatnya *remmodelling* dan reorganisasi dari matriks ekstraseluler, perubahan fibroblas menjadi miofibroblas dan tersusun sejajar dengan permukaan luka, meningkatnya kolagen, serta penurunan pembuluh

darah (Vidinsk *et al.*, 2006). Penyembuhan luka pada tikus dengan luka bakar derajat II (*deep partial thickness)* dilaporkan telah memasuki fase *remodelling* pada hari ke-21 yang ditandai dengan penurunan angiogenesis, proliferasi fibrolas dan pemadatan kolagen (Pereira *et al.*, 2012). Tujuan utama tahap *remodelling* adalah untuk mencapai kekuatan regang maksimum melalui reorganisasi, degradasi, dan sintesis matriks ekstraseluler. Pada tahap akhir penyembuhan lesi ini berupaya untuk memulihkan struktur jaringan normal dan jaringan granulasi secara bertahap direnovasi, membentuk jaringan parut yang kurang seluler dan vaskular serta menunjukkan adanya peningkatan konsentrasi kolagen yang progresif. Tahap ini ditandai dengan maturasi elemen dan perubahan pada matriks ekstraseluler dan resolusi dari respon peradangan awal. Begitu permukaan lesi ditutupi oleh keratinosit *monolayer*, migrasi epidermisnya berhenti dan epidermis bertingkat baru dengan lamina basal dibangun kembali dari batas luka ke bagian dalamnya. Pada tahap ini, terdapat deposisi matriks dan perubahan dalam komposisinya. Dengan menutupnya luka, kolagen tipe III mengalami degradasi dan sintesis kolagen tipe I meningkat. Sepanjang fase ini, terjadi pengurangan asam hyaluronik dan *fibronectic* yang terdegradasi oleh sel dan metalloproteinase plasma. Pada fase ini, serat kolagen menjadi lebih tebal dan posisinya paralel, menghasilkan peningkatan kekuatan regang jaringan. Tahap resolusi sangat penting untuk pemulihan fungsi dan tampilan

> “normal” dari daerah lesi. Hal ini dikarenakan rendahnya produksi kemokin oleh sitokin anti-inflamasi, seperti IL-10 atau TGF- β1. Pengaturan sintesis kolagen dikendalikan oleh berbagai faktor pertumbuhan, seperti TGF- β1 dan FGF. Selama tahap *remodelling* kebanyakan pembuluh darah, fibroblas, dan sel-sel inflamasi menghilang dari daerah luka akibat proses emigrasi, apoptosis, atau mekanisme kematian sel yang tidak diketahui lainnya. Fibroblas jaringan granulasi mengubah fenotip mereka dan dengan sementara mengekspresikan aktin otot polos, yang disebut dengan miofibroblas. Miofibroblas berkontraksi untuk menyatukan batas luka dan juga merupakan penghasil utama matriks ekstraseluler dalam proses fibrosis (Rowan *et al.*, 2015; Gonzalez *et al.*, 2016).

Penyembuhan luka sudah banyak diteliti pada hewan denga tujuan untuk mendapatkan fase penyembuhan dan efek terapeutik pada fase penyembuhan yang semirip mungkin dengan pada kulit manusia. Tikus adalah hewan coba yang sering digunakan untuk studi penyembuhan luka karena ketersediaannya, biaya rendah, dan kemudahan penanganannya dibanding hewan coba lainnya. Fase penyembuhan luka pada tikus sendiri dapat berjalan lebih cepat karena terdapat beberapa karateristik yang berbeda pada kulit tikus. Selain itu, biasanya pada model luka eksisional didapatkan bahwa penyembuhan luka pada tikus terutama disebakan oleh kontraksi bukan pembentukkan jaringan granulasi seperti pada kebanyakan luka di manusia. Hal ini disebabkan

adanya lapisan otot subkutan yang ekstensif, yang disebut *pannuculus carnosus,* yang memudahkan kontraksi kulit pada penutupan luka. Pada manusia tidak terdapat strukur ini dan pada manusia dermisnya lebih melekat pada jaringan sub-dermal yang membuat proses kontraksi kurang dapat tercapai sehingga memungkinkan untuk terbentuknya jaringan granulasi. Akibatnya diperlukan manipulasi pada host atau luka dalam model penyembuhan luka untuk meminimalkan kontraksi atau menstimulasi kondisi lain yang memperlambat penyembuhan luka. Salah satu cara untuk mencegah kontraksi luka adalah dengan membalut luka (*splint wound*) seperti yang dilakukan oleh (Galiano, *et al.*, 2004) dengan perekatan donat silikon ke kulit yang mengelilingi luka eksisional penuh pada tikus. Hal ini memungkinkan untuk terjadinya pembentukkan jaringan granulasi dan menghasilkan kondisi yang lebih mirip seperti luka pada manusia (Lindblad, 2008).

2.3 *Silver Sulfadiazine*

Luka bakar dapat terinfeksi oleh bakteri gram positif, seperti *Staphylococcus aureus, S. aureus* resisten (MRSA), spesies *enterococcus,* dan bakteri gram negatif lainnya (*E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella sp*, *Proteus sp.*, *Enterobacter sp.*). Infeksi pada luka bakar in dapat menyebabkan keterlambatan penyembuhan luka dan bahkan sampai kematian. Infeksi merupakan penyebab kematian pada 75% kasus luka bakar melebihi 40% total luas permukaan tubuh. Kebutuhan terapi antibakteri yang tepat perlu dimulai pada waktu yang tepat untuk mencegah kerusakan serius (Venkataraman &

Nagarsenker, 2013). Tujuan akhir dari pengelolaan dan terapi luka bakar adalah penyembuhan luka dan epitelisasi sesegera mungkin untuk mencegah infeksi dan mengurangi efek fungsional dan estetika. Salah satu strategi untuk mencegah ancaman infeksi bakteri dan terjadinya sepsis adalah dengan menggunakan antibakteri yang paling lazim, yaitu perak (*silver*). Selama berabad-abad *silver* dikenal memiliki sifat bakterisid dan telah digunakan sejak lama. Beberapa produk obat juga sudah menggunakan silver, salah satunya adalah *Silver Sulfadiazine* (Atiyeh, *et al.*, 2007).

Silver sulfadiazine (Ag-SD) merupakan terapi lini pertama atau *gold standard* dalam pengobatan topikal luka bakar dengan sifat antibakterinya. Kelebihan obat ini adalah penggunaannya mudah dan nyaman, tidak menyebabkan rasa selama pemberian obat, dan memiliki kemampuan antibakteri untuk mencegah infeksi (Saeidinia, *et al.*, 2017). *Silver Sulfadiazine* (SSD) berikatan dengan komponen sel termasuk DNA dan menyebaban kerusakan membran. Hal ini akan menghambat bakteri dengan mengikat pasangan basa dalam heliks DNA sehingga menghambat terjadinya transkripsi. SSD merupakan kombinasi antara *silver* dan *sulfadiazine*. SSD merupakan polimer dimana setiap ion *silver* mengalami tetrakoordinasi dan dikelilingi oleh tiga molekul deprotonasi *sulfa*, dimana setiap molekul *sulfa* akan berikatan dengan tiga ion *silver* yang berbeda. Mekanisme obat ini yaitu ion *silver* akan terdisasosiasi dari *silver sulfadiazine* dan akan berikatan dengan bakteri, semenit kemudian molekul *sulfadiazine* akan aktif. Ketika bakteri terpapar oleh SSD, terjadi perubahan struktural dan perlemahan dinding sel bakteri, yang menyebabkan distorsi dan

pembesaran dari sel bakteri (Venkataraman & Nagarsenker, 2013). *Sulfadiazine* merupakan antibiotik yang termasuk dalam golongan sulfonamid. Mekanisme kerja dari antibiotik ini adalah dengan menghambat PABA (*p-aminobenzoic acid*) pada bakteri dengan bertindak sebagai penghambat kompetitif. PABA diperlukan bakteri untuk membentuk asam folat yang digunakan untuk sintesis purin dan asam-asam nukleat. Dalam proses sintesis asam folat, apabila PABA digantikan oleh sulfonamid, maka akan terbentuk analog asam folat yang tidak fungsional (Setiabudy & Marlana, 2012).

SSD menjadi obat topikal pilihan utama untuk penyembuhan luka bakar karena sifat antibakterinya yang cukup baik untuk mecegah infeksi pada luka. SSD biasanya tersedia dalam bentuk krim (10mg/g) yang diberikan 1-2 kali sehari (Setiabudy & Marlana, 2012). Namun, terdapat beberapa kelemahan dari obat ini, yaitu penyembuhan luka yang lambat, epitelisasi yang tidak lengkap dan lambat, adanya bekas luka hitam atau hiperpigmentasi kulit, penetrasi yang terbatas pada luka, hipersensitivitas, neutropenia, toksisitas dari *silver*, dan resistensi bakteri (Hosseini, *et al.*, 2007; Amiri, *et al.*, 2017; Saeidinia, *et al.*, 2017). *Silver sulfadiazine* juga dikontraindikasikan bagi wanita hamil dan menyusui serta bayi baru lahir (Genuino *et al.*, 2014).

2.4 Sel Punca

Sel punca adalah sel yang memiliki kemampuan untuk memperbaharui diri dan berdiferensiasi menjadi sel yang berbeda. Pembaharuan diri (*self-renewal*) didefinisikan sebagai kemampuan untuk menghasilkan sel anakan

yang mirip dengan sel induk. Sel anakan ini juga mampu menghasilkan turunan sel lainnya dengan potensi lebih terbatas. Sel punca dapat dibedakan menjadi sel punca embrionik (*embryonic stem cell*) dan sel punca dewasa (*adult stem cell*). Sel punca embrionik memiliki karateristik, yaitu pembaharuan diri, kapasitas klonal, *multilineage differentation*, kariotipe normal, kemampuan untuk berproliferasi dalam jumlah besar, dan dapat dibekukan atau dicairkan. Sel punca dewasa adalah sel tunggal yang dapat memperbaharui diri dan menghasilkan sel yang berdiferensiasi dari garis keturunan spesifik sehingga dapat menyusun kembali jaringan atau organ tubuh (Weiner, 2008). Tetapi dalam perkembangannya, peneliti telah menemukan bagaimana cara mengubah sel punca dewasa yang telah berdiferensiasi sepenuhnya menjadi sel punca embrionik kembali, sehingga pembagian tersebut kurang sesuai. Sel punca dewasa lebih tepat disebut sel somatik yang berarti "membentuk tubuh". Sel ini ditemukan di janin, plasenta, darah tali pusat, dan bayi (Biehl & Russel, 2014).

Dua karateristik yang menjelaskan tentang sel punca adalah kemampuan memperbaharui diri terus-menerus untuk menghasilkan sel keturunan yang sama dengan sel asal dan kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi sel dewasa khusus. Terdapat dua jenis utama sel punca, yaitu *pluripotent* yang dapat menjadi sel apa saja pada tubuh dan *multipotent* yang dapat menjadi populasi sel yang lebih terbatas. Dalam perkembangan normal, sel punca *pluripotent* hanya terdapat pada waktu yang singkat dalam embrio sebelum akhirnya berdiferensiasi menjadi sel punca *multipotent* yang lebih

terspesialisasi dan menjadi bagian dari jaringan tubuh. Sel punca *multipotent* ini terdiri dari beberapa subtipe: beberapa dapat menjadi sel yang berasal dari suatu garis germinal tertentu (endoderm, mesoderm, ektoderm) dan yang lainnya menjadi sel dari jaringan tertentu. Sel punca memiliki potensi besar dalam regenerasi dan perbaikan jaringan, dan masih perlu dipelajari lebih lanjut sebelum potensi terapeutik dapat tercapai secara penuh (Biehl & Russel, 2014).

Sel punca atau *stem cell* adalah sel yang tidak/belum terspesialisasi yang mempunyai 2 sifat: (Saputra, 2006)

a. Kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi sel lain (*differentiate*)

   Dalam hal ini sel punca mampu berkembang menjadi berbagai jenis sel matang, misalnya sel saraf, sel otot jantung, sel otot rangka, sel pankreas, dan lain-lain.

b. Kemampuan untuk memperbaharui atau meregenerasi dirinya sendiri (*self-regenerate/self-renew*)

   Dalam hal ini sel punca dapat membuat salinan sel yang persis sama dengan dirinya melalui pembelahan sel.

Berdasarkan kemampuan berdiferensiasi, sel punca dibagi menjadi: (Saputra, 2006)

a. *Totipotent*

   Dapat berdiferensiasi menjadi semua jenis sel. Yang termasuk dalam sel punca *totipotent* adalah zigot (telur yang telah dibuahi).

b. *Pluripoten*t

Dapat berdiferensiasi menjadi 3 lapisan germinal: ektoderm, mesoderm, dan endoderm, tapi tidak dapat menjadi jaringan ekstraembrionik seperti plasenta dan tali pusat. Yang termasuk sel punca *pluripotent* adalah *embryonic stem cells*.

c. *Multipotent*

Dapat berdiferensiasi menjadi banyak jenis sel. Misalnya: *hematopoietic stem cells*.

d. *Unipotent*

Hanya dapat menghasilkan 1 jenis sel. Sel punca *unipotent* mempunyai sifat dapat memperbaharui atau meregenerasi diri (*self-regenerate*/*self-*renew)

Sel punca ditemukan dalam berbagai jaringan tubuh. Berdasarkan sumbernya, sel punca dibagi menjadi: (Saputra, 2006)

a. *Zygote*

Yaitu pada tahap sesaat setelah sperma bertemu dengan sel telur.

b. *Embryonic stem cell*

Diambil dari inner cell mass dari suatu blastokista (embrio yang terdiri dari 50 – 150 sel, kira-kira hari ke-5 pasca pembuahan). *Embryonic stem cell* biasanya didapatkan dari sisa embrio yang tidak dipakai pada IVF (*in vitro fertilization*). Tapi saat ini telah dikembangkan teknik pengambilan *embryonic stem cell* yang tidak membahayakan embrio tersebut, sehingga

dapat terus hidup dan bertumbuh. Untuk masa depan hal ini mungkin dapat mengurangi kontroversi etis terhadap *embryonic stem cell*.

c. Fetus

Fetus dapat diperoleh dari klinik aborsi.

d. *Umbilical Cord Blood Stem cell*

Diambil dari darah plasenta dan tali pusat segera setelah bayi lahir. Sel punca dari darah tali pusat merupakan jenis *hematopoietic stem cell*, dan ada yang menggolongkan jenis stem cell ini ke dalam *adult stem cell*.

e. *Adult stem cell*

Diambil dari jaringan dewasa, antara lain dari sumsum tulang. *Adult stem cell* mempunyai sifat plastis, artinya selain berdiferensiasi menjadi sel yang sesuai dengan jaringan asalnya, *adult stem cell* juga dapat berdiferensiasi menjadi sel jaringan lain. Misalnya: *neural stem cell* dapat berubah menjadi sel darah, atau *stromal stem cell* dari sumsum tulang dapat berubah menjadi sel otot jantung, dan sebagainya (Biehl & Russel, 2014) . Ada 2 jenis *stem cell* dari sumsum tulang: (Saputra, 2006)

- *Hematopoietic stem cell*

  Selain dari darah tali pusat dan dari sumsum tulang, *hematopoietic stem cell* dapat diperoleh juga dari darah tepi.

- *Stromal stem cell* atau disebut juga *mesenchymal stem cell*

  Jaringan lain pada dewasa seperti pada: susunan saraf pusat, adiposit (jaringan lemak), otot rangka, pankreas.

Sel punca pluripoten yang digunakan dalam penelitian saat ini terutama berasal dari embrio (sel punca embrionik). Dibanding sel punca pluripoten, sel punca multipoten merupakan pilihan yang lebih tepat untuk penggunaan klinis. Sel-sel ini memiliki plastisitas untuk menjadi sel progenitor pada lapisan germinal tertentu atau terbatas untuk menjadi hanya satu atau dua jenis sel khusus dari jaringan tertentu. Sel punca multipoten dengan potensi diferensiasi tertinggi ditemukan pada embrio yang sedang berkembang pada tahap gastrulasi (hari 14-15 pada manusia, hari 6,5-7 pada mencit). Sel punca multipoten yang paling dikenal adalah sel punca yang ditemukan di sumsum tulang karena sudah digunakan secara terapeutik sejak tahun 1960an untuk mengobati leukemia, myeloma, dan limfoma. Penelitian terkini telah menemukan sumber baru untuk sel punca multipoten yang memiliki plastisitas lebih besar, yaitu pada plasenta dan darah tali pusat (Biehl & Russel, 2014).

Sel punca mesenkimal, sel punca utama untuk terapi sel, telah digunakan selama kurang lebih 10 tahun. Dari penelitian eksperimental dengan hewan sampai uji klinis, sel punca mesenkimal banyak digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit, terutama pada cedera jaringan dan gangguan kekebalan tubuh (Wei, *et al*., 2013).

Adanya keterbatasan penggunaan sel punca embrionik pluripoten di klinik karena terdapat masalah etis dan kecendrungan menjadi teratoma, penelitian banyak berkembang di ranah sel punca mesenkimal yang terbebas dari

masalah-masalah tersebut. Sel-sel ini pertama kali diisolasi dikarakterisasi oleh Friedenstein dan rekan-rekannya pada tahun 1974. Sel punca mesenkimal (*mesenchymal stem cells*) disebut juga sel stroma mesenkimal (*mesenchymal stromal cells*), adalah subset dari *non-hematopoietic adult stem cells* yang berasal dari mesoderm. Sel-sel ini memiliki kemampuan untuk memperbaharui diri dan dapat berdiferensiasi tidak hanya menjadi sel yang berasal dari mesoderm, seperti kondrosit, osteosit, dan adiposit, tetapi juga sel ektodermik dan sel endodermik. Sel punca mesenkimal terdapat di hampir semua jaringan. Sel ini dapat secara mudah diisolasi dari sumsum tulang, jaringan adiposa, tali pusat, hati janin, otot, dan paru (Shin, *et al*., 2017).

Sampai saat ini, terdapat banyak uji klinis yang bertujuan untuk mengevaluasi potensi dari terapi sel punca mesenkimal. Penelitian menunjukkan bahwa sel punca mesenkimal efektif untuk pengobatan berbagai penyakit, termasuk penyakit imun dan penyakit non imun (Wei, *et al*., 2013). Sel punca mesenkimal juga telah digunakan secara klinis selama lebih dari 10 tahun terakhir ini dan terbukti aman dan efektif untuk terapi berbagai penyakit autoimun yang sulit diobati dan penyakit inflamasi, dengan sifat imunomodulatornya (Shin, *et al*., 2017).

Banyak penelitian preklinis dan klinis menunjukkan peran penting sel punca mesenkimal dalam penyembuhan cedera jaringan, salah satu contohnya dalam penyembuhan luka. Sel ini dipercaya bertanggung jawab atas pertumbuhan, penyembuhan luka, pergantian sel yang hilang karena aktivitas sehari-hari

dan keadaan patologik, seperti luka. Karena fungsinya tersebut, sel ini terbukti efektif dalam perawatan cedera jaringan dan penyakit degeneratif. Dalam studi preklinis yang dilakukan oleh Tim Prockop, menunjukkan bahwa sel punca mesenkimal efektif dalam mengobati infark miokard dan kerusakan kornea melalui sekresi *tumor necrosis factor-inducible gene 6 protein*, yang dapat mengurangi peradangan dan meningkatkan rekontruksi jaringan. (Wei, *et al*., 2013).

Selain kemampuan untuk mengobati cedera jaringan, sel punca mesenkimal juga dipakai untuk meringankan gangguan imun atau kekebalan tubuh karena sel punca mesenkimal memiliki kapasitas yang besar untuk mengatur respon imun. Karena sifat imunosupresif yang dimilikinya, sel ini telah banyak digunakan untuk mengobati penyakit inflamasi (Khosrotehrani, 2013).

Sebagai contoh, sel punca mesenkimal telah berhasil diterapkan untuk membalikkan *graft-versus-host disease* (penyakit GvHD) pada pasien yang menerima transplantasi sumsum tulang, terutama pada pasien yang didiagnosis dengan resistensi steroid berat. Dalam studi klinis fase II yang dilakukan oleh (Blanc *et al*., 2008), dari 55 pasien dengan resistensi steroid dan GvHD akut berat, 30 pasien (54,5%) menunjukkan respon lengkap (*complete* response) yang ditandai dengan menghilangnya gejala GvHD akut setelah diterapi dengan infus IV BMSC (*Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell*) alogenik.

Demikian juga pada penyakit autoimun, seperti lupus eritamatosus sistemik dan *Crohn*, sel punca mesenkimal autologous dan alogenik mampu menekan peradangan dan mengurangi kerusakan pada ginjal dan usus kemungkinan melalui induksi sel T regulator (Wei, *et al*., 2013; Khosrotehrani, 2013).

Sel punca mesenkimal telah banyak digunakan dalam pengobatan karena beberapa alasan berikut, yaitu (1) sel punca mesenkimal dapat menuju ke daerah peradangan dan jaringan yang rusak seperti luka atau tumor; (2) sel punca mesenkimal memiliki kemampuan imunosupresif. Sel ini dapat memodulasi respon imun bawaan dan adaptif; (3) sel punca mesenkimal memiliki kemampuan untuk mendukung sel lain melalui faktor parakrin. Sejumlah penelitian melaporkan bahwa faktor parakrin mendukung angiogenesis atau proses perbaikan sel lainnya; (4) sel punca mesenkimal dapat berdiferensiasi menjadi kartilago, tulang, lemak, dan sel lainnya dalam garis keturunan mesenkimal. Dalam dermatologi, sel punca mesenkimal dapat berdiferensiasi menjadi fibroblas secara in vitro jika terpapar dengan faktor pertumbuhan jaringan ikat (Khosrotehrani, 2013).

Sel punca mesenkimal juga sudah banyak dipakai dalam penelitian di bidang dermatologi. Kebutuhan terapi sel dalam dermatologi terutama dalam penyembuhan luka. Penyembuhan luka pada kulit adalah proses yang kompleks dan terdiri dari tiga tahap yang dapat tumpang tindih, yaitu fase inflamasi yang bisa menjadi kronis jika luka persisten; fase pembentukkan jaringan baru termasuk perekrutan miofibroblas, angiogenesis, dan *reepedermisation*; serta fase *remodelling* termasuk migrasi fibroblas dari

dermis menuju jaringan parut dan mengatur ulang kolagen. Proses ini dapat menghasilkan jaringan parut. Perbaikan jaringan parut telah diamati dengan penggunaan fibroblas alogenik. Hal ini mendukung gagasan bahwa sel punca mesenkimal mungkin bermanfaat dalam penyembuhan luka dengan memghasilkan dermis baru. Selain itu, sel punca mesenkimal dermis dapat menopang epidermis interfolikular in vivo selama perkembangan, homeostasis atau pada kultur *organotypic* dengan memproduksi faktor pertumbuhan, seperti GM-CSF, faktor pertumbuhan keratinosit, atau IGF-1. Hal tersebut memungkinkan sel punca mesenkimal untuk mempercepat penutupan luka, mengurangi terjadinya jaringan parut, dan meningkatkan angiogenesis. Penggunaan sel punca mesenkimal dilaporkan telah berhasil dalam mengobati penderita ulkus diabetikum, luka bakar kulit yang parah (40% permukaan tubuh) (Khosrotehrani, 2013).

Penelitian yang dilakukan oleh (Falanga, *et al*., 2007) juga melaporkan bahwa pemberian topikal sel punca mesenkimal menghasilkan akselerasi penyembuhan luka akut maupun kronis pada manusia dan hewan percobaan (tikus). Studi preklinis dan klinis terkini juga telah menunjukkan bahwa sel punca mesenkimal berhasil digunakan untuk pengobatan dermatitis atopik (Shin, *et al*., 2017).

Sel punca mesenkimal dianggap memiliki sifat *hypo-immunogenicity* karena rendahnya tingkat ekspresi molekul MHC (*Major Histocompatibility Complex*) kelas I yang dimilikinya, kurangnya molekul MHC kelas II, dan

molekul *co-stimulatory* seperti CD80, CD86, dan CD40. Hal ini memungkinkan sel punca mesenkimal untuk aman digunakan secara alogenik tanpa risiko penolakan oleh tubuh (Shin, *et al*., 2017).

Sel punca mesenkimal dapat memodulasi memodulasi respon imun pejamu dengan mengubah polarisasi makrofag dan sel T. Sel ini dapat menginduksi sel T regulator dan menghambat pembentukkan TH 17 dengan mekanisme kontak lansung maupun tidak lansung. Sel ini juga dapat memodulasi subpopulasi makrofag yang terlibat dalam penyembuhan luka pada kulit. Sel punca mesenkimal memicu penyembuhan luka dengan cara memicu makrofag yang mengurangi inflamasi dan mempercepat penyembuhan serta meningkatkan kapasitas angiogenesis. Sel ini juga mampu untuk memodulasi sinyal dari kerusakan jaringan yang menghasilkan kaskade dari ekspresi kemokin, perekrutan leukosit, dan kerusakan jaringan lebih lanjut. Sejumlah penelitian juga mengaitkan keberhasilan penutupan luka menggunakan terapi sel punca mesenkimal dengan faktor parakrin yang dimilikinya, seperti VEGF, EGF, KGF, IGF, MMP 9, atau sitokin seperti IL 6 atau IL 8. Manfaat terapeutik dari sel ini nampaknya disebabkan oleh aktivitas parakrin sel punca dengan efek spesifik pada makrofag luka (Khosrotehrani, 2013).

2.5 Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia

Sel punca mesennkimal dari sumsum tulang, organ dewasa, dan fetus memiliki kelemahan karena isolasinya bersifat invasif, jumlah sel yang terbatas, dan adanya kendala etika. Sedangkan, sel punca embrionik,

pluripoten, dan pluripoten yang diinduksi memiliki potensi untuk mengalami penolakan oleh sistem imun dan menjadi sel tumor. Halangan tersebut telah mendorong penelitian dan evaluasi lebih lanjut terhadap sel punca yang berasal dari sumber lain. Tali pusat, saat ini, telah menjadi sumber sel punca mesenkimal yang paling populer (Bongso & Fong, 2012).

Dari berbagai sumber sel punca mesenkimal yang tersedia, tali pusat memiliki kelebihan, yaitu ekonomis, bersifat produktif, layak, dapat diterima, dan merupakan sumber universal untuk isolasi sel punca mesenkimal. Selain itu, beberapa peneliti juga mengganggap bahwa sel punca yang berasal dari tali pusat juga lebih menguntungkan dibandingkan dengan sel punca mesenkimal yang berasal sumsum tulang belakang (*bone marrow mesenchymal stem cells*) (*BM-MSCs*) dan adiposa (*adipose-derived mesenchymal stem cells*). Hal ini dikarenakan isolasi sel punca mesenkimal dari sumsum tulang memerlukan prosedur yang invasif dan menimbulkan rasa sakit pada pasien berbeda dengan sel punca mesenkimal tali pusat yang tidak memerlukan prosedur tersebut (Arno, *et al.*, 2014; Puranik, *et al.*, 2012). Transplantasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia juga telah dilakukan pada beberapa penelitian klinis dan menunjukkan hasil yang memuaskan untuk mengobati berbagai penyakit. Penelitian yang dilakukan (Wang, *et al.*, 2013) pada pasien sirosis bilier primer yang diberi transplantasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia secara infus intravena menunjukkan adanya perbaikan gejala dari dan terapi ini dapat ditoleransi dengan baik oleh pasien tanpa adanya efek samping. Penelitian serupa juga dilakukan oleh (Shi, *et al.*,

2012) pada pasien *acute-on-chronic liver failure* (*ACLF*) yang melaporkan adanya peningkatan tingkat *survival* dan fungsi hati tanpa adanya efek samping yang signifikan.

(Sun, *et al*., 2010) juga melaporkan penggunaan transplantasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan infus intravena pada terapi lupus eritematosus sistemik. Hasil yang dicapai adalah adanya perbaikan klinis penyakit, perubahan serologis, dan stabilisasi sitokin proinflamasi.

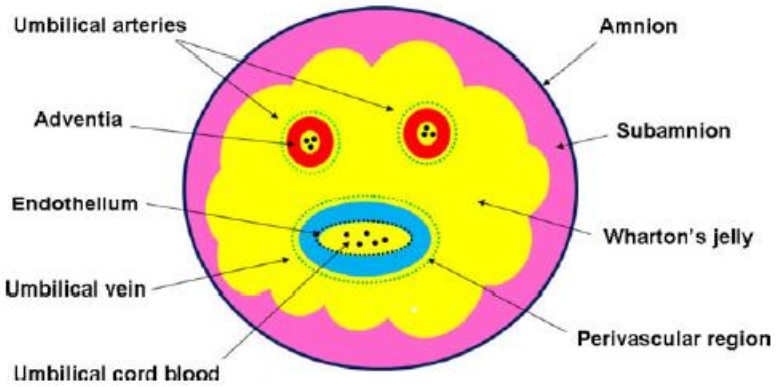
Transplantasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia secara infus intravena juga dilaporkan telah dipakai pada terapi psoriasis vulgaris dan menunjukkan keberhasilan terapi, yaitu adanya perbaikan gejala klinis pada kulit, tidak terjadinya kekambuhan selama 4-5 tahun dan tercapainya konsdisi pasien yang tetap stabil (Chen, *et al*., 2016).

Sel punca yang berasal dari *Wharton's jelly* nampaknya menawarkan utilitas klinis terbaik karena properti uniknya yang menguntungkan. Sel punca ini tidak kontroversial, dapat diambil dalam jumlah banyak tanpa menimbulkan rasa sakit, bersifat proliferatif, multipoten, *hypoimmunogenic* dan tidak menginduksi pembentukkan tumor (Bongso & Fong, 2012).

Penelitian sebelumnya dengan sel punca mesenkimal tali pusat manusia (*umbilical cord Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells*) (WJ-MSCs), telah menunjukkan bahwa sel punca tersebut menghasilkan banyak

sel muda, non-tumorigenik, dan memiliki kemampuan imunomodulator yang mungkin dapat ditransplatasi secara alogenik untuk meregenerasi hati, jantung, tulang, tulang rawan, lemak, pankreas, saraf, vaskular/endotel, dan komponen kulit (Arno, *et al*., 2014). WJ-MSCs yang diisolasi dari kambing telah menunjukkan untuk mempercepat penutupan luka pada hewan dari spesies yang sama, sambil meminimalkan jaringan granulasi dan peradangan (Azari, *et al*., 2011). WJ-MSC yang diisolasi manusia terbukti dapat menurunkan fibrosis paru, ginjal, dan hati dan dapat berdiferensiasi menjadi sel mirip kelenjar keringat sehingga dapat mendorong regenerasi kulit. WJ-MSCs dapat mensekresi proangiogenik dan faktor pendukung penyembuhan luka, seperti *transforming growth factor beta* (TGF-β), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *platelet-derived growth factor, insulin-like growth factor-I, interleukin-6* (IL-6) dan IL-8 (Arno, *et al*., 2014).

Tali pusat manusia mulai berkembang sekitar minggu kelima masa kehamilan dan pada umumnya rata-rata memiliki panjang sekitar 50 cm. Terdapat beberapa kompartemen pada tali pusat manusia (Bongso & Fong, 2012).



Gambar 1. Ilustrasi diagramatik dari penampang melintang tali pusat manusia
Keterangan: gambar ini menunjukkan kompartemen dari mana sel punca diisolasi (amnion, subamnion, Wharton's jelly, perivaskular, adventia, endotelium, darah tali pusat)
Sumber: Bongso & Fong, 2012

Populasi sel punca dengan sifat sel punca yang bervariasi telah dilaporkan pada masing-masing kompartemen tersebut. Populasi sel punca pada masing-masing kompartemen belum diketahui apakah sama atau tidak karena tidak ada batasan yang jelas secara histologis. Sampai saat ini, tampaknya sel punca dari kompartemen Wharton jelly's merupakan sel punca yang paling dapat dijelaskan dengan beberapa karateristik unik (Bongso & Fong, 2012). Beberapa peneliti melaporkan bahwa sel punca mesenkimal yang diisolasi dari darah tali pusat, *Wharton Jelly's*, dan daerah perivaskular pada tali pusat memiliki utilitas klinis yang lebih baik karena frekuensi isolasi dari *colony forming unit-fibroblasts* (CFU-Fs) sangat tinggi dan keterlambatan pemrosesan sampai 48 jam tidak mempengaruhi isolasi tersebut, berbeda dengan darah tali pusat, yang mana penundaan lima jam bisa mengurangi efisiensi isolasi sampai 60% (Prasanna & Jahnavi, 2011).

Sel punca mesenkimal muncul sebagai terapi penyembuhan luka yang menjanjikan. Terdapatnya mekanisme sinyal parakrin, seperti pelepasan faktor yang meningkatkan angiogenesis (VEGF), imunomodulasi, perekrutan dan diferensiasi sel progenitor merupakan mekanisme yang mungkin mendasari efek postitif sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada penyembuhan luka (Arno, *et al.*, 2014). Penelitian yang dilakukan (Liu, *et al.*, 2014) melaporkan bahwa transplantasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada tikus yang mengalami luka bakar berat/parah dapat mempercepat penutupan luka dengan momodulasi lingkungan inflamasi, meningkatkan pembentukkan matriks granulasi yang tervaskularisasi dengan baik dan pembentukkan kolagen kerangka. Sel punca mesenkimal tali pusat manusia juga telah terbukti dapat memperbaiki penyembuhan luka yang tertunda pada tikus diabetes, meningkatkan epitelisasi, angiogenesis, dan pembentukkan jaringan granulasi (Shabbir, *et al.*, 2015). Selain itu, sel punca mesenkimal tali pusat manusia diketahui dapat mengaktivasi kaskade sinyal faktor pertumbuhan pada sel target, yaitu AKT, STAT3, dan ERK. Dengan menstimulasi jalur ini, sel target akan meningkatkan ekspresi berbagai faktor pertumbuhan, yaitu HGF, IL-6, IGF1, NGF, dan SDF1. STAT3 sendiri memiliki peran penting dalam proses penyembuhan luka, yaitu dalam migrasi, proliferasi, angiogenesis, dan produksi faktor pertumbuhan. Sel punca mesenkimal diketahui memiliki gen STAT3 (Shabbir, *et al.*, 2015).

Terdapat dua macam metode untuk mengisolasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia, yaitu metode eksplan (*explant method*) dan pencernaan

enzimatik (*enzymatic digestion*). Dalam metode pencernaan enzimatik, enzim yang digunakan bervariasi, yaitu mulai dari kolagenase sampai kombinasi kolagenase dan dan hyaluronidase dengan atau tanpa tripsin. Metode ini dapat memberikan populasi sel yang lebih homogen dan konsisten dibanding dengan metode eksplan (Ding, *et al*., 2015).

2.6 Gambaran Umum Hewan Coba

Strategi penyembuhan luka perlu diuji secara ilmiah. Penggunaan "model" sangat diperlukan untuk mendapatkan informasi sebanyak-banyaknya tentang proses penyembuhan luka itu sendiri. Etik membatasi sampai melarang penggunaan manusia sebagai model eksperimen, terutama manusia dengan gangguan penyembuhan luka, yang dapat berpotensi membahayan manusia itu sendiri. Studi awal yang dapat mendukung studi selanjutnya adalah dengan eskperimen in vivo menggunakan hewan. Salah satu keuntungan penggunaan hewan adaah proses penyembuhan lukanya yang cepat sehingga memungkinkan untuk mempelajari proses ini dalam beberapa hari daripada berminggu-minggu seperti yang dibutuhkan oleh manusia. Selain itu, dengan hewan dapat juga diambil jaringannya dan dianalisis secara mikroskopis. Hewan yang sering digunakan adalah tikus karena ekonomis dan mudah dimanipulasi secara genetis. Selain itu, penggunaan tikus juga memiliki keuntungan, yaitu mudah didapat, ukuran yang tidak bersar, sifat penurut, dan telah banyak digunakan sebelumnya sebagai model penyembuhan luka (Dorsett-Martin & Wysocki, 2008; Dunn, *et al.*, 2013).

Tikus Norway (*Rattus norvegicus*) galur albino merupakan tikus yang paling sering digunakan dalam penelitian sebagai hewan coba di laboratorium. Terdapat tiga macam galur tikus putih yang dikenal untuk dijadikan hewan coba, yaitu galur *Sprague dawley*, Long Evans, dan Wistar.Tikus Norway putih galur *Sprague dawley* pertama diciptakan oleh Robert S. Dawley pada tahun 1925 yang merupakan hasil persilangan dari tikus Wistar betina dengan tikus jantan yang tidak diketahui klasifikasinya. Tikus ini digunakan secara ekstensif untuk model hewan dari kondisi manusia, seperti diabetes, obesitas, kanker, penyakit kardiovaskular, penyembuhan luka, dan sebagainya (Sharp &Villano, 2012; Brower *et al.*, 2015).

Berikut adalah taksonominya (Sharp & Villano, 2012)

Kingdom : Animalia

Filum : Cordata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

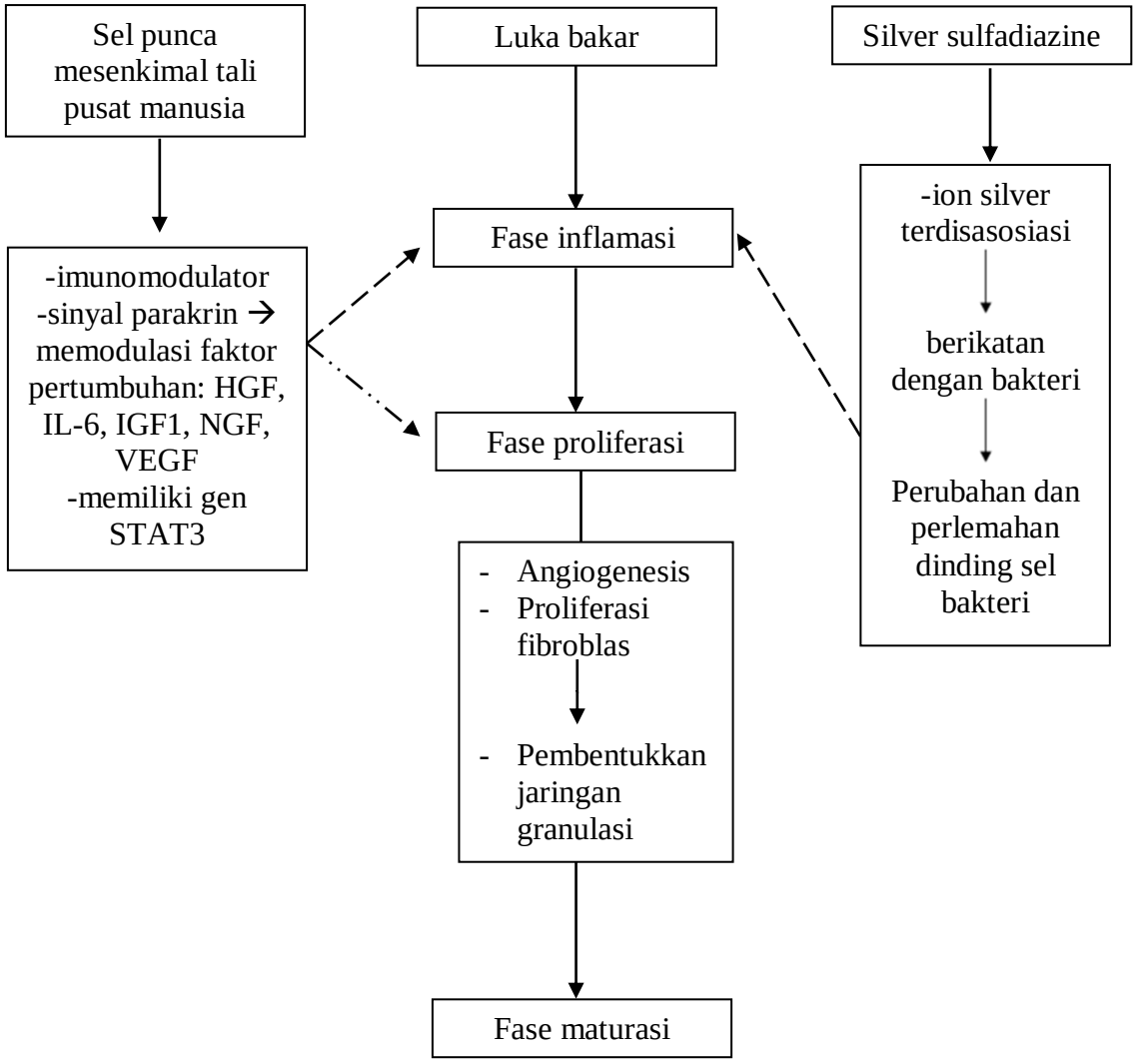
Familia : Muridae

Genus : Rattus

Spesies : *Rattus norvegicus*

2.6 Kerangka Penelitian

2.6.1 Kerangka teori



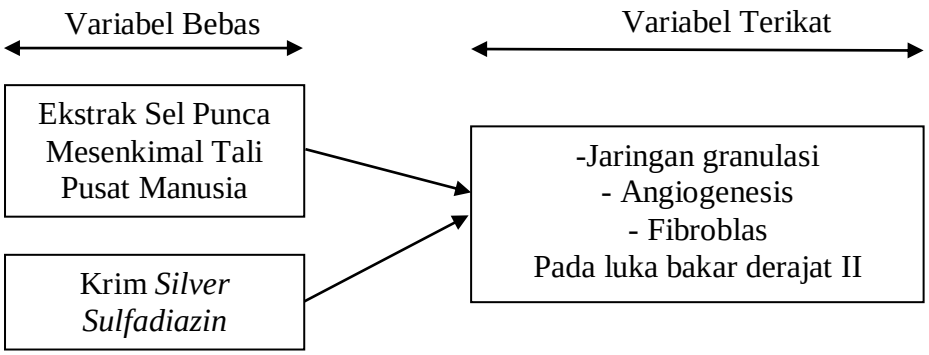
Gambar 2. Kerangka teori
(Setiabudy & Marlana, 2012; Venkataraman & Nagarsenker, 2013; Khosrotehrani, 2013; Arno, *et al.*, 2014; Shabbir, *et al.*, 2015; Gonzalez, *et al.*, 2016)

Keterangan:

– – – – → = Mengurangi inflamasi

– · · – · · – → = Meningkatkan angiogenesis dan proliferasi fibroblas

2.6.2 Kerangka Konsep



Gambar 3. Kerangka konsep

2.7. Hipotesis

Berdasarkan tinjauan pustaka di atas, hipoesis alernatif dari penelitian ini adalah:

Ho = Tidak terdapat perbedaan jaringan granulasi, angiogenesis, dan fibroblas dan pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan krim *silver sulfadiazin* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Ha = Terdapat perbedaan jaringan granulasi, angiogenesis, dan fibroblas dan pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan krim *silver sulfadiazin* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik untuk mengetahui perbedaan pembentukkan jaringan granulasi, angiogenesis, dan jumlah fibroblas pada luka bakar derajat II antara pemberian sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan krim *silver sulfadiazine* pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*).

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanan pada bulan November 2017-Januari 2018. Pembuatan sediaan topikal sel punca mesenkimal tali pusat manusia dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler selama 1 hari. Tempat adaptasi dan perlakuan pada hewan percobaan dilakukan di *Pet House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pembuatan preparat dan pengamatannya dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.4 Subjek Penelitian

3.4.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley*.

3.4.2 Sampel Penelitian

Besar sampel penelitian dihitung dengan menggunakan rumus Frederer

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

$(n-1)(9-1) \geq 15(n-1)\ 8 \geq 15(n-1) \geq \frac{15}{8} n\ \geq 2{,}875$

$n =$ dibulatkan menjadi 3

Antisipasi *drop out* adalah 10%, sehingga n = 4

Keterangan :

n : Besar sampel tiap kelompok

t : Banyaknya kelompok

Berdasarkan perhitungan di atas, jumlah sampel minimal yang dibutuhkan untuk masing-masing kelompok perlakuan adalah empat ekor tikus dengan jumlah kelompok sebanyak sembilan kelompok sehingga jumlah seluruh sampel penelitian sebanyak 36 tikus. Pembagian sampel ke dalam tiap kelompok perlakuan dilakukan dengan pemilihan secara acak.

3.4.3 Kriteria Inklusi

1. Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*
2. Memiliki berat badan 250-300 gram
3. Berusia 2-3 bulan sebelum dilakukan adaptasi
4. Tampak sehat dan bergerak aktif pada pengamatan visual

3.4.4 Kriteria Eksklusi

1. Terdapat penurunan berat badan secara drastis lebih dari 10% setelah masa adaptasi
2. Terdapat kelainan anatomis pada pengamatan secara visual

3.4.5 Kriteria *Drop Out*

1. Sakit (penampakan rambut kusam, rontok, atau botak dan aktivitas kurang atau tidak aktif, keluarnya eksudat tidak normal dari mata, mulut, anus, atau genital)
2. Mati selama masa perlakuan

3.4.6 Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel yang dilakukan adalah *simple random sampling*.

3.5 Identifikasi Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas atau variabel independen dalam penelitian ini adalah sel punca mesenkimal tali pusat manusia dan krim *silver sulfadiazine*.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat atau variabel dependen dalam penelitian ini adalah jaringan granulasi, angiogenesis, dan fibroblas pada luka bakar derajat II pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*).

3.6 Definisi Operasional Variabel Penelitian

Tabel 1. Definisi operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Variabel Bebas						
1	Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia	Ekstraksi DNA *Wharton's jelly Mesenchymal Stem Cells* yang diambil dari tali pusat manusia yang dibuat di Laboratorium Biologi Molekuler FK Unila dioleskan topikal 1 kali sehari	Lembar observasi	Hasil pengamatan dicatat dalam lembar observasi	Diberi/tidak diberi	Nominal
2	Krim *silver sulfadiazine*	*Silver sulfadiazine* diambil dari sediaan krim burnazin. Setiap gram krim burnazin mengandung *silver sulfadiazine* 10 mg. Dioleskan topikal 1 kali sehari	- Lembar observasi	Hasil pengamatan dicatat dalam lembar observasi	Diberi/tidak diberi	Nominal
3	Kontrol negatif	Kontrol negatif tidak diberikan	- Lembar observas	Hasil pengamata		

		perlakuan apapun pada luka atau dibiarkan sembuh sendiri.	i dan foto	n dicatat dalam lembar observasi	
Variabel Terikat			-		
4	Jaringan granulasi	Jaringan granulasi pada jaringan	-	0: *immature* dan terdapat jaringan inflamasi pada ≥ 70% jaringan 1: *Thin immature* dan terdapat pada ≥ 60% jaringan 2: *Moderate remodelling* pada ≥ 40% jaringan 3: *Thick granulation layer* dan terdapat matriks kolagen yang terbentuk dengan baik pada ≥ 60% jaringan 4: *Complete tissue organization* pada ≥ 80% jaringan	Ordinal
5	Angiogenesis	Pembentukkan pembuluh darah baru pada jaringan	-	0: tidak ada, 1: 1-2 pembuluh darah 2: 3-4 pembuluh darah 3: 5-6 pembuluh darah 4: > 7 pembuluh darah	Numerik
6	Fibroblas	Fibroblas pada jaringan	-	0: Tidak adanya fibroblas 1: Terdapat beberapa fibroblas 2: Terdapat fibroblas yang tidak teratur 3: Terdapat fibroblas yang sejajar dengan permukaan luka	Ordinal

3.7 Alat dan Bahan

3.7.1 Alat Penelitian

a. Catatan harian observasi
b. Sarung tangan lateks sekali pakai
c. Gelas beker
d. Mikropipet beserta tipnya
e. *Vortex*
f. *Spin down*
g. Inkubator
h. *Quick-DNA Universal Kit* (tabung *Zymo-Spin IIC-XL*)
i. Tabung mikrosentrifugasi
j. Kassa steril
k. *Biological safety cabinet*

3.7.1 Bahan Penelitian

a. NaCl fisiologis
b. Alkohol
c. Tali pusat manusia
d. Larutan buffer fosfat
e. *Quick-DNA Universal Kit* (*Solid Tissue Buffer,* Proteinase K, *Genomic Binding Buffer*, *DNA-Pre Wash Buffer*, *g-DNA Wash Buffer*, dan *DNA Elution Buffer*)
f. *Lidocain 0,2%*
g. Akuades

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Tahap Persiapan

3.8.1.1 Aklimatisasi Hewan Uji

Aklimatisasi adalah penyesuaian diri dengan iklim, lingkungan, kondisi, atau suasana baru. Sebelum diberi perlakuan, terlebih dahulu dilakukan pengadaptasian semua tikus di *Pet House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung selama minimal satu minggu. Tikus diadaptasikan dengan tempat tinggal baru, serta makanan dan minumannya. Pemberian makan tikus dilakukan dengan standar sesuai dengan kebutuhan (*ad libitum*).

3.8.1.2 Pengambilan Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat

Penelitian dilakukan setelah mendapat persetujuan *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Tali pusat didapat dari donor sukarela yang telah menandatangani lembar informed consent. Donor sukarela merupakan ibu yang tidak memiliki riwayat preeklampsia, penyakit menular seksual, penyakit infeksi seperti hepatitis B, hepatitis C, HIV, infeksi Cytomegalo virus, infeksi Treponema pallidum, serta riwayat infeksi lain yang ditularkan melalui darah, sawar plasenta, dan genital (Puranik, *et al*., 2012; Chen, *et al.*, 2015).

Setelah bayi lahir, tali pusat dipotong sekitar 5-7 cm menggunakan pisau steril dan disimpan dalam wadah berisi larutan salin normal 0.9% kemudian disimpan pada suhu 4^0C sampai proses pengolahan dilakukan.

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

sel punca mesenkimal tali pusat manusia dibuat menggunakan *Quick-DNA Universal Kit,* produksi Zymo Research. Sampel disiapkan dengan memotong jaringan tali pusat ke dalam ukuran sangat kecil. 25 mg sampel yang telah di timbang menggunakan timbangan digital dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifugasi kemudian di tambah dengan 95 µL air, 95 µL Solid Tissue Buffer, dan 10 µL Proteinase K lalu putar menggunakan vortex selama 10-15 detik. Kemudian, inkubasi tabung tersebut pada suhu 55^0C selama 1-3 jam atau sampai jaringan larut.

Setelah inkubasi selesai, untuk membersihkan debris yang tidak bisa larut, mikrosentrifugasi tabung dengan kecepatan 12.000 xg selama 1 menit lalu ambil supernatant dan masukkan ke dalam

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

Setelah itu, tambahkan 400 µL DNA *Pre-Wash Buffer* ke dalam tabung pengumpul baru lalu sentrifugasi dengan kecepatan 12.000 xg selama 1 menit, lalu kosongkan tabung pengumpul. Kemudian tambahkan 700 µL g-DNA Wash Buffer lalu sentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.000 xg selama 1 menit, lalu kosongkan tabung pengumpul. Setelah itu, tambahkan kembali 200 µL *g-DNA Wash Buffer* lalu sentrifugasi dengan kecepatan dan waktu yang sama dengan proses sebelumnya, lalu kosongkan tabung pengumpul. Terakhir, pindahkan tabung *Zymo-Spin* yang telah ditambahkan 50 µL *DNA Elution* ke dalam tabung pengumpul baru, lalu inkubasi pada suhu ruang selama 5 menit, dan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 xg selama 1 menit. Terbentuklah 50 µL sel punca mesenkimal tali pusat manusia. Simpan pada suhu -20^0C sampai akan digunakan (Zymo Research, 2017).

3.8.2 Tahap Pengujian

3.8.3.1 Pembuatan Luka Bakar

Cara pembuatan luka bakar derajat II sebagai berikut (Fatemi, *et al*, 2014; Khazaeli, *et al*, 2014):

a. Tentukan terlebih dahulu daerah yang akan dibuat luka bakar
b. Pasang perlak dan alasnya di bawah tikus yang akan dibuat luka bakar
c. Cuci tangan dan pakai sarung tangan
d. Lakukan anestesi pada area kulit yang akan dibuat luka bakar dengan ketamin (60 mg/kg) dan xylazin (10 mg/kg) secara intramuskular
e. Hilangkan bulu pada bagian dorsal tikus dengan mencukur sesuai dengan luas area luka bakar yang diinginkan
f. Luka bakar dibuat menggunakan plat besi berbentuk lingkaran dengan diameter 2 cm yang dipanaskan di air mendidih (100^{o}C)
g. Plat besi yang telah dipanaskan kemudian ditempelkan selama 15 detik pada area kulit tikus yang telah ditentukan sebelumnya
h. Satu jam setelah pembuatan luka bakar, diberikan terapi secara topikal sesuai dengan kelompok perlakuan yang telah ditentukan

3.8.3.2 Pemberian Terapi pada Luka Bakar

Setelah luka bakar terbentuk, penanganan diberikan berdasarkan protokol penanganan luka bakar. Setelah luka bakar terbentuk, jika terdapat jaringan nekrosis, dilakukan *debridement* lalu bilas luka dengan menggunakan akuades dan dilanjutkan sesuai dengan kelompok perlakuan yang sudah ditentukan. Luka bakar pada kelompok perlakuan 1 (P1), luka diolesi dengan sel punca mesenkimal tali pusat manusia 0,02 mL sampai menutupi seluruh permukaan luka. Luka bakar pada kelompok perlakuan 2 (P2) diolesi dengan krim Burnazin 0,02 mL sampai menutupi seluruh permukaan luka. Luka bakar pada kelompok kontrol negatif (K) tidak diolesi apapun. Setelah itu tutup luka dengan kasa untuk mencegah rembesan ke daerah luar luka. Perawatan luka tersebut dilakukan setiap hari sebanyak satu kali sehari. Tikus dieutanasia pada hari ke 4, 14, dan 28 untuk diambil jaringan luka pada kulitnya dan dilakukan pemeriksaan histologi. Tikus di eutanasia secara inhalasi dengan kloroform.

3.8.3.3 Pembuatan Slide Preparat

Setelah tikus mati, dilakukan pengambilan jaringan kulit yang telah dibuat bakar dan diberi terapi. Sampel luka difiksasi menggunakan formalin 10%. Metode pembuatan preparat histologi sebagai berikut:

a. *Fixation*

Fiksasi spesimen berupa potongan luka dari organ kulit segera dengan pengawet formalin 10%. Kemudian, cuci dengan air mengalir sebanyak 3-5 kali.

b. *Trimming*

Organ dikecilkan hingga ukuran ± 3 mm. Selanjutnya, potongan organ tersebut dimasukkan ke dalam *embedding cassete*.

c. *Dehydration*

Air dikeringkan dengan menggunakan kertas tisu pada *embedding cassete*. Perendaman organ dimulai berturut-turut dengan alkohol 80%, 95%, 95%, alkohol absolut I, II, III masing-masing selama satu jam.

d. *Clearing*

Alkohol dibersihkan dengan menggunakan *xylol* I, II, III masing-masing selama 1 jam.

e. *Impregnasi*

Paraffin I, II, III digunakan masing-masing selama 2 jam dalam inkubator dengan suhu 65,1^{o}C.

f. *Embedding*

Tuang paraffin dalam pan, pindahkan satu per satu *embedding cassete* ke dasar pan. Lepaskan paraffiin yang berisi organ dari pan dengan memasukkan ke dalam suhu 4-6^{o}C selama beberapa saat. Potong paraffin sesuai dengan

letak jaringan dengan menggunakan scalpel/pisau hangat. Letakkan pada balok kayu, ratakan pinggirna dan buat ujungnya sedikit meruncing. Blok paraffin siap dipotong dengan mikrotom.

g. *Cutting*

Sebelum memotong, dinginkan blok terlebih dahulu. Lakukan potongan kasar lanjutkan potongan halus sebesar 3 mikron. Pilih lembaran potongan yang paling baik, apungkan pada air dan hilangkan kerutannya dengan cara menekan salah satu sisi lembaran jaringan tersebut dengan ujung jarum dan sisi lain yang ditarik menggunakan kuas runcing. Pindahkan lembaran jaringan ke dalam *water bath* selama beberapa detik sampai mengembang sempurna. Dengan gerakan menyendok, ambil lembaran jaringan tersebut dengan slide bersih dan tempatkan di tengah atau pada sepertiga atas atau bawah jaringan. Keringkan slide, jika slide sudah kering, panaskan untuk meratakan jaringan dan sisa paraffin mencair sebelum pewarnaan.

h. Pewarnaan dengan *Harris Hematoxylin Eosin*

Setelah jaringan melekat sempurna pada slide pilih slide yang terbaik secara berurutan masukkan ke dalam zat kimia di bawah ini dengan waktu sebagai berikut:

- Untuk pewarnaan, zat kimia pertama yang digunakan adalah *xylol* I, II, III selama 5 menit

- Kedua, zat kimia yang digunakan adalah alkohol absolut I, II, III masing-masing selama 5 menit
- Ketiga, zat kimia yang digunakan adalah akuades selama 1 menit
- Keempat, potongan organ dimasukkan ke dalam zat warna *Harris Hematoxylin Eosin* selama 20 menit
- Kelima, potongan organ dimasukkan dalam akuades selama 1 menit dengan sedikit menggoyang-goyangkan organ
- Keenam, organ dicelupkan dalam asam alkohol 2-3 celupan
- Ketujuh, organ dibersihkan dalam akuades bertingkat masing-masing 1 dan 15 menit
- Kedelapan, organ dimasukkan ke dalam eosin selama 2 menit
- Kesembilan, secara berurutan, organ dimasukkan ke dalam alkohol 96% selama 2 menit, alkohol 96%, alkohol absolut III dan IV masing-masing selama 3 menit
- Terakhir, organ dimasukkan ke dalam *xylol* IV dan V masing-masing selama 5 menit

i. *Mounting*

Setelah pewarnaan selesai, slide ditempatkan di atas kertas tisu pada tempat datar, ditetesi dengan bahan *mounting*

yaitu kanada balsam kemudian ditutup dengan *cover glass* dan cegah adanya gelembung udara.

j. Pembacaan slide dengan mikroskop

Slide dilihat di bawah mikroskop cahaya dengan 5 lapang pandang dan dibaca oleh ahli histologi dan patologi anatomi.

3.8.3 Tahap Intepretasi Hasil

Intepretasi hasil menggunakan parameter sebagai berikut:

1. Jaringan Granulasi

   0 : *Immature* dan terdapat jaringan inflamasi pada ≥ 70% jaringan

   1 : *Thin immature* dan terdapat pada ≥ 60% jaringan

   2 : *Moderate remodelling* pada ≥ 40% jaringa

   3 : *Thick granulation layer* dan terdapat matriks kolagen yang terbentuk dengan baik pada ≥ 60% jaringan

   4 : *Complete tissue organization* pada ≥ 80% jaringan

2. Angiogenesis

   0 : Tidak ada

   1 : 1-2 pembuluh darah

   2 : 3-4 pembuluh darah

   3 : 5-6 pembuluh darah

   4 : > 7 pembuluh darah

3. Fibroblas

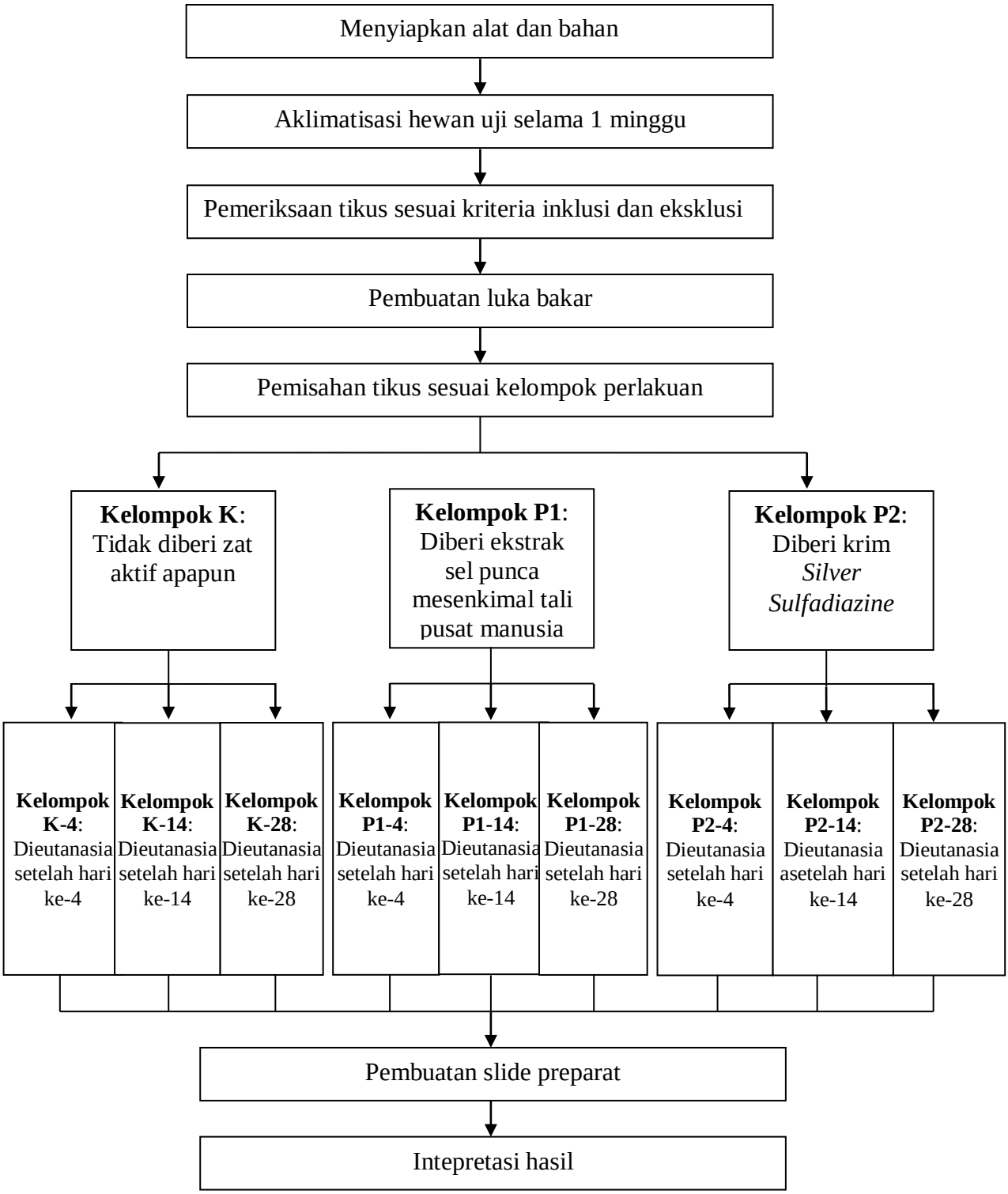
0 : Tidak adanya fibroblas

1 : Terdapat beberapa fibroblas

2 : Terdapat fibroblas yang tidak teratur

3 : Terdapat fibroblas yang sejajar dengan permukaan luka

3.9 Alur Penelitian



Gambar 4. Alur Penelitian

3.10 Pengolahan dan Analisis Data

3.10.1 Pengolahan Data

Data hasil observasi yang diperoleh diubah ke dalam bentuk tabel, dikelompokkan, kemudian diolah menggunakan software komputer. Proses pengolahan data tersebut terdiri dari:

a. *Editing*

Pada tahap ini, penulis mengkaji dan meneliti kembali data yang diperoleh kemudian memastikan apakah terdapat kekeliruan atau tidak dalam pengisian lembar observasi.

b. *Coding*

Coding merupakan pemeberian kode yang berupa angka-angka terhadap data yang masuk berdasarkan variabelnya masing-masing. Coding juga untuk menerjemahkan data yang dikumpulkan selama penelitian ke dalam simbol yang cocok untuk keperluan analisis.

c. *Tabulating*

Tabulating adalah mengelompokkan data ke dalam suatu tabel tertentu menurut sifat-sifat yang dimilikinya. Maksud pembuatan tabel-tabel ini adalah menyederhanakan data agar mudah melakukan analisis sehingga dapat ditarik kesimpulan.

d. *Entry Data*

Proses memasukkan data kedalam program komputer untuk dapat dianalisis.

3.10.2 Analisis Data

Analisis statistik untuk mengolah data yang diperoleh akan menggunakan program *software* uji statistik dan akan dilakukan dua macam analisis data, yaitu analisis univariat dan analisis bivariat.

1. Analisis univariat

   Analisis univariat bertujuan untuk menjelaskan atau mendeskripsikan karateristik tiap variabel penelitian. Bentuk analisis univariat tergantung dari jenis datanya. Pada penelitian ini analisis univariat digunakan untuk menunjukkan rerata dari tiap variabel.

2. Analisis bivariat

   Analisis bivariat bertujuan untuk analisis uji hipotesis komparatif numerik lebih dari dua kelompok tidak berpasangan untuk mengetahui hubungan antarvariabel kategorik dan numerik. Data dianalisis menggunakan *software* statistik. Jenis statistik yang digunakan adalah uji *One Way ANOVA* dengan beberapa catatan sebagai berikut (Dahlan, 2015):

   a. Bila sebaran normal dan varian sama, gunakan uji *One Way ANOVA* dengan *post hoc* Benferroni atau LSD.
   b. Bila sebaran normal dan varian berbeda, gunakan uji *One Way ANOVA* dengan *post hoc* Tamhane's.

c. Bila sebaran tidak normal, lakukan transformasi. Analisis yang dilakukan bergantung pada sebaran dan varian hasil transformasi.
d. Bila sebaran tidak normal, gunakan uji Kruskal-Wallis dengan *post hoc Mann-Whitney*.

3.11 Kaji Etik

Penelitian ini telah diajukan kepada komisi etik penelitian kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan diterima dengan persetujuan etik nomor 186/UN26.8/DL/2018.

BAB V
SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat ditarik beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Tidak terdapat perbedaan bermakna jaringan granulasi, angiogenesis, dan fibroblas dan pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan krim *silver sulfadiazine* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada hari ke-4.
2. Terdapat perbedaan bermakna jaringan granulasi, angiogenesis, dan fibroblas dan pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan krim *silver sulfadiazine* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada hari ke-14.
3. Tidak terdapat perbedaan bermakna jaringan granulasi, angiogenesis, dan fibroblas dan pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan krim *silver sulfadiazine* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada hari ke-28.

5.2 Saran

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

5.2.1 Bagi Peneliti Lain

Diharapkan dapat mengamati efek sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap luka bakar derajat II dengan melihat parameter miroskopis lainnya dan dengan memperhatikan faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi proses pembentukkan jaringann granulasi, angiogenesis, dan fibroblas dalam proses penyembuhan luka. Selain itu diharapkan hasil penelitian ini dapat menjadi dasar untuk dilanjutkan ke penelitian klinis selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

Amin H Z. 2007 Terapi stem cell untuk infark miokard Akut, *Infark Miokat Akut*: 18.

Aramwit P, Palapinyo S, Srichana T, Chottanapund S, Muangman P. 2013. Silk sericin ameliorates wound healing and its clinical efficacy in burn wounds. Arc of Dermatol Res. 305(7):585–594.

Arno AI, Amini-Nik S, Bli PH, Al-Shehab M, Belo C, Herer E, *et al.* 2014. Human Wharton's jelly mesenchymal stem cells promote skin wound healing through paracrine signaling. Stem cell research & therapy. 5(1): 28–41.

Atiyeh BS, Costagliola M, Hayek SN, Dibo SA. 2007. Effect of silver on burn wound infection control and healing: Review of the literature. Burns. 33(2):139–148.

Azari O, Babaei H, dan Derakhshanfar A. 2011 Effects of transplanted mesenchymal stem cells isolated from Wharton' s jelly of caprine umbilical cord on cutaneous wound healing; histopathological evaluation. Springer: 211–222.

Biehl JK. dan Russel B. 2014. Introduction to Stem Cell Therapy. 24(2):98–105

Blanc K, Frassoni L, Ball L., Franco L, Helene R, ,Ian L, *et al.* 2008 Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant , severe , acute graft-versus-host disease: a phase II study. Lancet. 371: 1579–1586.

Bongso A. dan Fong C. 2012. The therapeutic potential, challenges and future clinical directions of stem cells from the Wharton' s Jelly of the Human Umbilical Cord. Stem Cell Reviews and Reports. 9(2): 226-240.

Brower M, Grace M, Kotz CM, Koya V. 2015. Comparative analysis of growth

characteristics of Sprague Dawley rats obtained from different sources. Lab Anim Res. 31(4), 166-173.

Chen G, Yue A, Ruan Z, Yin Y, Wang R, Ren Y, *et al*. 2015 Comparison of biological characteristics of mesenchymal stem cells derived from maternal-origin placenta and Wharton's jelly. Stem Cell Research & Therapy. 6(1): 228.

Chen H, Niu JW, Ning HM, Pan X, Li XB, Wang DH, *et al.* 2016. Treatment of Psoriasis with Mesenchymal Stem Cells. Am J Med. 129(3):e13-e14

Choi M, Lee H, Naidansaren P, Kim HK, Eunju O, Cha JH, *et al.* 2013. Proangiogenic features of Wharton's jelly-derived mesenchymal stromal/stem cells and their ability to form functional vessels. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. 45(3):560–570.

Dahlan, M. S. 2015. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan: deskriptif, bivariat, dan nultivariat. Edisi 6. Jakarta: Epidemiologi Indonesia.

Departemen Kesehatan RI (2013) 'Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2013, Laporan Nasional 2013, pp. 1–384. doi: 1 Desember 2013.

Ding DC, Chang YH, Shyu WC, Lin SZ. 2015. Human umbilical cord mesenchymal stem cells: a new era for stem cell therapy. Cell transplantation. 24(3):339–347.

Duarte CME, Quirino MRZ, Patrocinio MC, Anbinder AL. 2011 Effects of Chamomilla recutita(L.) on oral wound healing in rats. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 16(6):716–721.

Dun, L, Prosser HCG, Tan JTM, Vanags LZ, Ng MKC, Bursill CA. 2013 Murine Model of Wound Healing. Journal of Visualized Experiments. (75):1–6.

Elsous A, Mahmoud O, Samah M, Mokayad AMS, Abo-Shaban, N, Abed AH. 2016. Epidemiology and Outcomes of Hospitalized Burn Patients in Gaza Strip: A Descriptive Study. Ethiopian Journal of Health Sciences. 6(1): 9–16.

Falanga V, Iwamoto S, Chartier M, Yugit T, Butmarc J, Kouttab N, *et al.* 2007 Autologous Bone Marrow-Derived Cultured Mesenchymal Stem Cells Delivered

in a Fibrin Spray Accelerate Healing in Murine and Human Cutaneous Wounds. Tissue Eng. 13(6):1299-1312.

Fatemi MJ, Nikoomaram B, Rahimi AAK, Talayi D, Taghavi S, Ghavami Y. 2014. Effect of green tea on the second degree burn wounds in rats. Indian J Plast Surg. 47(3):370–375.

Galiano RD, Michaels J 5th, Dobryansky M, Levine JP, Gurtner GC. 2004. Quantitative and reproducible murine model of excisional wound healing. Wound Repair and Regen. 12(4):485–492.

Garcia-Espinoza JA, Aguilar-Aragon VB, Ortiz-Villalobos EH, Garcia-Manzano RA, Antonio BA. 2017. Burns: Definition, Classification, Pathophysiology and Initial Approach. Gen Med (Los Angeles). 5:298.

Genuino GA, Baluyut-Angeles KV, Espiritu AP, Lapitan MC, Buckley BS. 2014. Topical petrolatum gel alone versus topical silver sulfadiazine with standard gauze dressings for the treatment of superficial partial thickness burns in adults: A randomized controlled trial. Burns. 40(7):1267–1273.

Gonzalez AC, Costa TF, Andrade ZA, Medrado ARAP. 2016. Wound healing-A literature review. An Bras Dermatol. 91(5):614–620.

Hosseini SV, Tanideh N, Kohanteb J, Ghodrati Z, Mehrabanii D, Yarmohammadi H. 2007. Comparison between Alpha and Silver Sulfadiazine ointments in treatment of Pseudomonas infections in 3rd degree burns. International J Surg. 5(1):23–26.

Khazaeli P, Karamouzian M, Rohani Sm Sadeghirad B, Ghalekhani N. 2014 Effects of Minoxidil Gel on Burn Wound Healing in Rats.Iran J Pharm Res. 13(1):243–251.

Khosrotehrani, K. 2013. Mesenchymal stem cell therapy in skin : why and what for?. Exp Dermatol. 22(5):307–310.

Lindblad WJ. 2008 Considerations for selecting the correct animal model for dermal wound-healing studies. J Biomater Sci Polym Ed. 19(8):1087–1096.

Liu L, Yu Y, Hou Y, Chai J, Duan H, Chu W, *et* al. 2014. Human umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation promotes cutaneous wound healing of severe burned rats. PLoS ONE. 9(2):e88348.

Mehrabani D, Farjam M, Geramizadeh B, Tanideh N, Amini M, Panjehshahin MR. 2015. The healing effect of curcumin on burn wounds in rat. World J Plast Surg. 4(1): 29–35.

Mescher A. L. 2014. Histologi Dasar Junqueira. Edisi 12. Diedit oleh H. Hartanto. Jakarta: EGC.

Moenadjat Y, Merlina M, Surjadi CF, Sardjono CT, Kusnadi Y, Sandra F. 2013. The application of human umbilical cord blood mononuclear cells in the management of deep partial thickness burn. Med J Indones. 22(2): 92–99.

Mohtasham Amiri Z, Tanideh N, Sediqhi A, Mokhtari M, Amini M, Shakouri Partovi A, *et al*. 2017. The Effect of Lithospermum officinale, Silver Sulfadiazine and Alpha Ointments in Healing of Burn Wound Injuries in Rat. World J Plast Surg. 6(3), pp. 313–318.

Pereira DDST, Lima-Ribeiro MHM, Pontes-Filho NTD, Carneiro-Leao AMDA, Correia MTDS. 2012. Development of animal model for studying deep second-degree thermal burns. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2012(2012):1-7.

Prasanna SJ. dan Jahnavi VS. 2011. Wharton' s Jelly Mesenchymal Stem Cells as Off-The-Shelf Cellular Therapeutics: A Closer Look into their Regenerative and Immunomodulatory Properties. The Open Tissue Enginering and Regenerative Medicine Journal. 2014(4):28–38.

Puranik SB, Nagesh A dan Guttedar RS. 2012. Isolation of mesenchymal-like cells from Wharton's jelly of umbilical cord. International journal of pharmaceutical, chemical and biological sciences. 2(3):218–224.

Rashaan ZM, Krijnen P, Klamer RR, Schipper IB, Dekers OM, Breederveld RS. 2014. Nonsilver treatment vs. silver sulfadiazine in treatment of partial-thickness burn wounds in children: A systematic review and meta-analysis. Wound Repair Regen. 22(4):473–482.

Rihatmadja, R. 2015. Anatomi dan Faal Kulit dalam Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin. Edisi 7. Jakarta: Badan Penerbit FK UI.

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. Critical Care. 19:243

Saeidinia A, Keihanian F, Lashkari AP, Lahiji HG, Mobayyen M, Heidarzade A, Goichai J. 2017. Partial-thickness burn wounds healing by topical treatment: A randomized controlled comparison between silver sulfadiazine and centiderm. Medicine (Baltimore). 96(9):e6168.

Saputra V. 2006 Dasar-dasar Stem Cell dan Potensi Aplikasinya dalam Ilmu Kedokteran. 153:21–25.

Schaefer TJ. dan Szymanski KD. 2017. Burns, Evaluation, and Management. StatPearls Publishing.

Setiabudy R. and Marlana Y. 2012. Sulfonamid, Kotrimoksazol, dan Antiseptik Saluran Kemih dalam Sulistia and Gunawan (eds) Farmakologi dan Terapi. Edisi 5. Jakarta: Badan Penerbit FKUI. 599–612.

Shabbir A, Cox , Rodriquez-Menocal L, Salqado M, Van Badiavas E. 2015. Mesenchymal Stem Cell Exosomes Induce Proliferation and Migration of Normal and Chronic Wound Fibroblasts, and Enhance Angiogenesis In Vitro. Stem Cells Dev. 24(14):1635–1647

Sharp P. dan Villano J.2012. The Laboratory Rat. Edisi 2. CRC Press.

Sherwood L. 2011. Fisiologi Manusia: dari Sel ke Sistem. Edisi 6 Diedit oleh N. Yesdelita. Jakarta: EGC.

Shi M, Zhang Z, Xu R, Lin H, Fu J, Zou Z, *et al*. 2012. Human Mesenchymal Stem Cell Transfusion Is Safe and Improves Liver Function in Acute-on-Chronic Liver Failure Patients. Stem Cells Transl Med 1(10):725–731.

Shin TH, Kim SH, Choi SW, Kang KS. 2017. Mesenchymal Stem Cell Therapy for Inflammatory Skin Diseases: Clinical Potential and Mode of Action. Int J Mol

Sci. 18(2): 244.

Sun L, Wang D, Liang J, Zhang J, Feng X, Wang H, *et al*. 2010. Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Severe and Refractory Systemic Lupus Erythematosus. Arthritis Rheum. 62(8): 2467–2475.

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

Vidinsk B, Gal P, Toporcer F, longauer L, Lenhardt N, Bobrov J. 2006. Histological Study of the First Seven Days of Skin Wound Healing in Rats. Acta Veterinaria Brno 75(2):97–202.

Wang L, Li J, Liu H, Li Y, Fu J, Sun Y, *et al*. 2013. A pilot study of umbilical cord-derived mesenchymal stem cell transfusion in patients with primary biliary cirrhosis. J Gastroeenterol Hepatol. 28(1): 85–92.

Wardhana A, Basuki A, Prameswara ADH, Rizkita DN, Andarie AA, Canintika AF. 2017. The epidemiology of burns in Indonesia's national referral burn center from 2013 to 2015. Burns Open. 1(2017):67–73.

Wei X, Yang X, Han ZP, Quu FF, Shao L, Shi YF. 2013. Mesenchymal stem cells: a new trend for cell therapy. Acta Pharmacol Sin. 34(6):747–754.

Weiner LP. 2008. Definitions and Criteria for Stem Cells. Methods Mol Biol. 438:3-8

World Health Organisation. 2014. WHO Health Estimates 2014 Summary Tables: Deaths and Global Burden of Disease dalam WHO Health Estimates 2014 Summary Tables. WHO.

Zymo Research 2017. Instruction Manual: Quick-DNA Universal Kit Miniprep Kit Catalog Nos. D4068 & D4069.