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

(Skripsi)

Oleh:
TITIK HERDAWATI

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018

ABSTRACT

THE DIFFERENCE OF PMN AND MN INFLAMMATORY CELL LEVELS IN SECOND DEGREE BURN WOUND HEALING BETWEEN THE TOPICAL OF HUMAN UMBILICAL CORD MESENCHYMAL STEM CELLS EXTRACT AND SILVER SULFADIAZINE TREATMENT IN *Sprague dawley* WHITE MALE RATS (*Rattus norvegicus*)

By

TITIK HERDAWATI

Background: Burns are a form of tissue damage due to contact with heat sources. *Silver sulfadiazine* is a gold standard topical therapy of burns. One of the other wound treatments currently used is the mesenchymal stem cell extract that has the ability to differentiate into other cells. This research is aimed to know the difference of PMN and MN inflammation cell number in second degree burn between topical extract of human cord mesenchymal stem cell extract with *silver sulfadiazine*.

Method: This study was a laboratory experimental study using 27 male white rats (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley* which was grouped into 9 treatments. Treatment was divided into K1 groups: negative control, P1: human cord mesenchymal stem cell extract, P2: *silver sulfadiazine* of 4,14 days, and 28. The observation of difference of number of PMN and MN inflammatory cells was done for 28 days using microscopic assessment criteria, then the data were analyzed using *one way ANNOVA.*

Result: Based on the result of research, the result of the average of PMN inflammation cell on the 4th day K1:8,67, P1:5,67, P2:7,00, day 14 K1:8,33, P1:3,33, P2:6,67, day 28 K1:7,33, P1:5,67, P2:6,67, whereas the mean of inflammatory cell MN on day 4 K1:7,00, P1:5,67 , P2:6,67, day 14 K1:8,00, P1:3,33, P2:6,67, day 28 K1:8,33, P1:5,67, P2:7,33.

Conclusion: Topical delivery of human cord mesenchumal stem cell extract has a great influence on the mean number of inflammatory cells of PMN and MN.

Keywords: Human stem cell mesenchymal stem extract, burns, inflammatory cells, *silver sulfadiazine*.

ABSTRAK

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

Oleh

TITIK HERDAWATI

Latar Belakang: Luka bakar merupakan suatu bentuk kerusakan jaringan akibat kontak dengan sumber panas. *Silver sulfadiazine* merupakan *gold standard* terapi topikal luka bakar. Salah satu pengobatan luka lain yang saat ini digunakan adalah ekstrak sel punca mesenkimal yang memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi sel lain. Penilitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan jumlah sel radang PMN dan MN pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan *silver sulfadiazine*.
Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik menggunakan 27 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley* yang dikelompokkan menjadi 9 perlakuan. Perlakuan terbagi atas kelompok K1: kontrol negatif, P1: ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia, dan P2: *silver sulfadiazine* hari ke-4, 14, dan 28. Pengamatan terhadap perbedaan jumlah sel radang PMN dan MN dilakukan selama 28 hari menggunakan kriteria penilaian mikroskopis, kemudian data dianalisis menggunakan uji analisis *one way ANNOVA.*
Hasil: Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh hasil rerata sel radang PMN pada hari ke-4 K1: 8,67, P1: 5,67, P2: 7,00, hari ke-14 K1: 8,33, P1: 3,33, P2: 6,67, hari ke-28 K1: 7,33, P1: 5,67, P2: 6,67, sedangkan rerata sel radang MN pada hari ke-4 K1:7,00, P1: 5,67, P2: 6,67, hari ke-14 K1: 8,00, P1: 3,33, P2: 6,67, hari ke-28 K1: 8,33, P1: 5,67, P2: 7,33.
Kesimpulan: Pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkumal tali pusat manusia memiliki pengaruh sangat besar terhadap rerata jumlah sel radang PMN dan MN.

Kata kunci: Ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia, luka bakar, sel radang, *silver sulfadiazine*.

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

Oleh:
TITIK HERDAWATI

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA KEDOKTERAN

Pada

Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018

Judul Proposal Skripsi : **PERBEDAAN JUMLAH SEL RADANG PMN DAN MN PADA LUKA BAKAR DERAJAT II ANTARA PEMBERIAN TOPIKAL EKSTRAK SEL PUNCA MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA DENGAN *SILVER SULFADIAZINE* PADA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley***

Nama Mahasiswa : Titik Herdawati

Nomor Pokok Mahasiswa : 1418011213

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran

MENYETUJUI

Pembimbing

Pembimbing 1	Pembimbing 2
dr. Evi Kurniawaty, S. Ked., M. Sc	**dr. Novita Carolia, S. Ked., M.Sc**
NIP.197601202003122001	NIP198311102008012001

MENGETAHUI

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. Novita Carolia, S. Ked., M.Sc**
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

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Titik Herdawati

Nomor Pokok Mahasiswa : 1418011213

Tempat Tanggal Lahir : Bumi Raharjo, 9 Juli 1996

Alamat : Jln. Bumi Manti 1 No. 9, Kampung Baru, Kedaton, Bandarlampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi dengan judul "Perbedaan Jumlah Sel Radang PMN dan MN pada Luka Bakar Derajat II antara Pemberian Topikal Ekstrak Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia dengan Silver sulfadiazine pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley*" adalah benar hasil karya penulis, bukan menjiplak hasil karya orang lain. Jika dikemudian hari ternyata ada hal yang melanggar dari ketentuan akademik universitas maka saya akan bersedia bertanggung jawab dan diberi sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya atas perhatiannya saya mengucapkan terima kasih.

Bandar Lampung, 1 Februari 2018

METERAI TEMPEL
TGL. 20
6DEA4AEF879127444
6000
ENAM RIBU RUPIAH

Titik Herdawati

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bumi Raharjo pada tanggal 9 Juli 1996, merupakan anak tunggal, dari Ayahanda Katipan dan Ibunda Yunirum.

Pendidikan Taman Kanak-Kanak (TK) diselesaikan di TK Bumi Ayu pada tahun 2001, Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SDN 1 Bumi Raharjo pada tahun 2008, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMPN 1 TRIMURJO pada tahun 2011, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMAN 1 TRIMURJO pada tahun 2014.

Tahun 2014, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Selama menjadi Mahasiswa penulis pernah aktif pada organisasi FSI Ibnu Sina Fakultas Kedokteran Universitas Lampung pada tahun 2014.

SANWACANA

Puji dan Syukur penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang tak henti-hentinya memberikan nikmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Skripsi dengan judul "Perbedaan Jumlah Sel Radang PMN dan MN pada Luka Bakar Derajat II antara Pemberian Topikal Ekstrak Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia dengan *Silver sulfadiazine* pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley*" adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini, penulis mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr. Muhartono, S.Ked, M.Kes., Sp.PA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. dr. Evi Kurniawaty, S. Ked., M.Sc., selaku Pembimbing Utama atas kesediaannya untuk memberikan bimbingan, saran dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi ini;

4. dr. Novita Carolia, S. Kes., M. Sc., selaku Pembimbing Kedua atas kesediaannya untuk memberikan bimbingan, saran dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi ini;
5. dr. Dwi Indria Anggraini, S. Ked., M. Sc., Sp.KK., selaku Penguji pada Ujian Skripsi atas waktu, ilmu, dan saran-saran yang telah diberikan;
6. dr. M. Yusran, S. Ked., M. Sc., Sp. M, selaku Pembimbing Akademik atas bimbingan, pesan dan nasehat yang telah diberikan selama ini;
7. Terkhusus dan paling spesial untuk papa dan mama yang tak pernah letih medidikku, menasehatiku, menyertakan namaku dalam setiap doanya, membimbing dan memberikan yang terbaik untukku. Terimakasih atas semua doa, nasehat, kesabaran dan segala sesuatu yang telah diberikan kepadaku. Terimakasih selalu menjadi sandaran dan penguat dalm setiap langkah kehidupan yang kujalani. Semoga persembahan ini dapat membuat papa mama bangga;
8. Kakak sepupuku Restu, Haris Fathurahham dan Irfan Amwaluddin yang selalu memberikan semangat, membantu dan menemani perjuangan hingga kini;
9. Bu Nuriah dan mbak Yani yang sudah banyak membantu dalam proses pembuatan ekstrak.
10. Seluruh Dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu yang telah diberikan kepada penulis untuk menambah wawasan yang menjadi landasan untuk mencapai cita-cita;

11. Seluruh staf dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
12. Teman-teman penelitian saya Niken Rahmantia, Eka Lestari, Natasha Naomi, Ni Made Ari Yuliami, Luh Dina Yulita, tanpa kalian saya tidak dapat menyelesaikan skripsi ini;
13. Sahabat dan keluarga terbaikku: Popi Zeniusa, Riestya Abdiana, Fistana Bella Valani, Neneng Sabrina, Sinta Widya Ningtias, Nofita Septiana, Tirza Juita, Kadek Ayu Gandi, Panji Ario Samudro, yang selalu membuat penulis bangkit dari keterpurukan. Terima kasih atas canda, tawa dan kebersamaan selama menjalani pendidikan di Fakultas Kedokteran Unila. Semoga persahabatan dan persaudaraan ini dapat terus terjalin selamanya sampai kita tua nanti;
14. Teman-teman seperjuanganku Monika Rai Islamiah, Fauzia Tria S., Purnama Simbolon, Reni Agustin, Vermitia yang telah membantu dan memberikan dukungan kepada saya;
15. Teman-teman angkatan 2014 yang tidak bisa disebutkan satu persatu. Terimakasih atas kebersamaan selama menjalani kuliah di Fakultas Kedokteran Unila semoga kelak kita menjadi sejawat sampai akhir hayat;

Akhir kata, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, akan tetapi penulis berharap semoga skripsi yang sederhana ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua.

Bandarlampung, Januari 2018

Penulis

Titik Herdawat

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI i
DAFTAR TABEL iv
DAFTAR GAMBAR v

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

BAB II TINJAUAN PUSTAKA
2.1 Struktur dan Fungsi Kulit 8
2.1.1 Epidermis 9
2.1.1.1 Stratum Basal 9
2.1.1.2 Stratum Spinosum 10
2.1.1.3 Stratum Granulosum 10
2.1.1.4 Stratum Lusidum 11
2.1.1.5 Stratum Korneum 11
2.1.2 Dermis 11
2.1.2.1 Stratum Papilaris 12
2.1.2.2 Stratum Retikularis 12
2.1.2.3 Kelenjar Sebasea 13
2.1.2.4 Kelenjar Keringat 13
2.1.3 Hipodermis 14
2.2 Luka 15
2.2.1 Definisi Luka 15
2.2.2 Klasifikasi Luka 16
2.2.3 Fase-fase Penyembuhan Luka 18
2.2.4 Penyembuhan Luka pada Tikus 24
2.3 Luka Bakar 25
2.3.1 Definisi Luka Bakar 25
2.3.2 Etiologi Luka Bakar 25

2.3.3 Derajat dan Luas Luka Bakar 26
2.3.4 Patofisiologi Luka Bakar 29
2.3.5 Gambaran Klinis Luka Bakar 30
2.4 Inflamasi 31
2.5 *Silver Sulfadiazine* 32
2.6 Sel Punca 33
2.6.1 Mekanisme Sel Punca 36
2.7 Tali Pusat 38
2.8 Terapi Gen 41
2.9 Gambaran Hewan Coba 43
2.10 Kerangka Penelitian 46
2.10.1 Kerangka Teori 46
2.10.2 Kerangka Konsep 47
2.11 Hipotesis 47

BAB III METODE PENELITIAN
3.1 Jenis Penelitian 49
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian 49
3.3 Subjek Penelitian 50
3.3.1 Populasi Penelitian 50
3.3.1.1 Kriteria Inklusi 50
3.3.1.2 Kriteria Eksklusi 50
3.3.1.3 Kriteria *Drop Out* 50
3.3.2 Sampel Penelitian 51
3.3.2.1 Teknik Sampling 53
3.4 Identifikasi Variabel Penelitian 53
3.4.1 Variabel Bebas 53
3.4.2 Variabel Terikat 53
3.5 Definisi Operasional 54
3.6 Alat dan Bahan 55
3.6.1 Alat Penelitian 55
3.6.2 Bahan Penelitian 56
3.7 Cara Kerja 57
3.7.1 Tahap Persiapan 57
3.7.1.1 Aklimatisasi Hewan Uji 57
3.7.1.2 Pembuatan Ekstrak Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat .. 57
3.7.1.3 Pembuatan Luka Bakar Derajat II 60
3.7.1.4 Pemberian Terapi 61
3.7.1.5 Prosedur Operasional Pembuatan Slide 61
3.7.1.6 Prosedur Peneliaian Tingkat Kesembuhan Luka Bakar . 65
3.7.1.7 Cara Penilaian Tingkat Kesembuhan Luka Bakar Derajat II 66
3.8 Alur Penelitian 67
3.9 Pengolahan dan Analisis Data 68
3.9.1 Pengolahan Data 68
3.9.2 Analisis Data 69
3.10 Kajian Etik 72

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN
4.1 Hasil Penelitian 73
4.1.1 Gambaran Umum Hewan Coba 73
4.1.2 Gambaran Makroskopis Luka Bakar 74
4.1.3 Gambaran Histologi Sel Radang PMN dan MN 75
4.1.4 Analisis Univariat Sel Radang PMN..... 77
4.1.5 Analisis Univariat Sel Radang MN..... 81
4.2 Pembahasan 86

BAB V SIMPULAN DAN SARAN
5.1 Simpulan 97
5.2 Saran 98

DAFTAR PUSTAKA..... 99
LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

1. Perbedaan Potensi dari Sel Punca Totipotent ke Sel Punca Nulipotent.....34
2. Penilaian Jumlah Sel Radang PMN per Lapangan Pandang.....66
3. Penilaian Jumlah Sel Radang MN per Lapangan Pandang.....66
4. Gambaran Makroskopis Luka Bakar 74
5. Gambaran Histopatologi Sel Radang PMN dan MN 75
6. Analisis Sel Radang Polimorfonuklear (PMN).....79
7. Analisis Sel Radang Mononuklear (MN) 82
8. Hasil Analisis Sel Radang PMN *One Way ANNOVA*.....84
9. Hasil Analisis Sel Radang MN *One Way ANNOVA*.....85

DAFTAR GAMBAR

1. Kelenjar Sebasea 13
2. Kelenjar Keringat 14
3. Lapisan-lapisan dan Apendiks Kulit 15
4. Fase Inflamasi.....21
5. Fase Proliferasi 22
6. Fase Maturasi 23
7. Luasnya Luka Bakar.....28
8. Gambaran Hewan Coba.....45
9. Kerangka Teori 46

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka bakar termasuk kecelakaan yang sering terjadi dalam kehidupan sehari-hari khususnya di rumah tangga dan derajat luka bakar yang sering ditemukan adalah derajat II. Luka bakar adalah suatu bentuk kerusakan jaringan akibat kontak langsung dengan sumber panas seperti api, air panas, bahan kimia, listrik, dan radiasi. Gejala dari luka bakar tersebut antara lain sakit, bengkak, merah, melepuh akibat peningkatan permeabilitas pembuluh darah (Izzati, 2015). Cedera luka bakar dapat bervariasi dari luka kecil yang bisa ditangani di sebuah klinik rawat jalan, hingga cedera luas yang dapat menyebabkan *Multi-system Organ Failure* (MOF) dan perawatan di rumah sakit yang memanjang. Kedalaman kerusakan jaringan akibat luka bakar tergantung pada derajat panas, sumber luka bakar, penyebab luka bakar dan lamanya kontak dengan tubuh penderita (Hidayat, 2013).

Prevalensi kejadian luka bakar di dunia pada tahun 2007-2009 tercatat per 100.000 orang yaitu negara dengan prevalensi terendah adalah Singapura (0,05%) dan prevalensi tertinggi adalah Finlandia (1,98%) (Isrofah, 2015). Sedangkan prevalensi luka bakar di Indonesia menurut Departemen Kesehatan

Republik Indonesia tahun 2007, tertinggi terdapat di provinsi Nangroe Aceh Darussalam dan Kepulauan Riau sebesar 3,8%. Data dari Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo Makassar, dalam jangka waktu 5 tahun 2006-2009 jumlah penderita luka bakar yang dirawat di perawatan luka bakar adalah 102 kasus, dengan angka kematian sebanyak 9,2% dan selama tahun 2010 jumlah kasus yang dirawat sebanyak 88 kasus dengan angka kematian 17,2%. Derajat luka bakar yang paling banyak ditemukan yaitu derajat II a-b dengan 36 kasus atau 46,7% dari seluruh kasus luka bakar yang didapatkan. Persentase luka bakar yaitu luas luka bakar 1-10% sebanyak 37 kasus atau 36,3% dan penyebab yang paling banyak adalah akibat air panas didapatkan 30 kasus dan terbanyak pada kelompok umur 1-10 tahun dengan 19 kasus (Awan, 2014).

Pada beberapa negara, luka bakar masih merupakan masalah yang berat, perawatannya masih sulit, memerlukan ketekunan dan membutuhkan biaya yang mahal serta waktu yang lama. Perawatan yang lama pada luka bakar sering membuat pasien putus asa dan mengalami stress, gangguan seperti ini sering menjadi penyulit terhadap kesembuhan optimal dari pasien luka bakar. Oleh karena itu, pasien luka bakar memerlukan penanganan yang serius dan optimal untuk mempercepat penyembuhan luka tersebut (Purwaningsih, 2015).

Semua luka bakar membutuhkan penanganan medis yang segera karena beresiko terhadap infeksi, dehidrasi dan komplikasi serius lainnya. Tindakan perawatan luka merupakan salah satu tindakan yang harus dilakukan pada

pasien dengan luka bakar karena pasien tersebut akan mengalami gangguan integritas kulit yang memungkinkan terjadi masalah kesehatan yang lebih serius. Tujuan utama dari perawatan luka tersebut adalah mengembalikan integritas kulit, menekan respon inflamasi serta mencegah terjadinya komplikasi infeksi. Perawatan luka meliputi pembersihan luka, pemberian terapi antibakteri topikal, pembalutan luka, penggantian balutan, debridemen, dan *graft* pada luka (Smeltzer & Bare, 2002).

Penggunaan *silver sulfadiazine* telah menjadi *gold standard* untuk terapi topikal pada luka bakar. Obat *silver sulfadiazine* tersedia dalam bentuk krim 1%. Krim ini bersifat bakteriostatik dan memiliki spektrum luas terhadap bakteri gram positif dan gram negatif (Koller, 2004; Sjamsuhidajat, 2004). Namun, terdapat beberapa kelemahan dari *silver sulfadiazine* antara lain penyembuhan luka yang lambat, epitelisasi yang tidak lengkap hiperpigmentasi kulit, dan toksisitas dari *silver* (Hosseini, *et al*., 2007; Amiri, *et al*., 2017).

Perkembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi kedokteran sekarang ini telah menghantarkan kita pada suatu cara pengobatan baru yang diharapkan dapat menjadi suatu pengobatan yang efektif dan efisien di masa depan. Para ahli terus berusaha dan mencoba untuk menemukan cara pengobatan terbaik, salah satunya dengan memodifikasi gen dengan tujuan mengobati kelainan dan mengembalikan fungsi sel ke keadaan normal (Kurnia, 2005).

Pengembangan obat atau gen alternatif untuk mengobati luka dilakukan selama bertahun-tahun. Salah satu terapi yang digunakan saat ini adalah dengan memanfaatkan sel punca. Sel punca merupakan sel yang dapat berdiferensiasi menjadi berbagai karakteristik sel (Yuliana & Suryani, 2012). Sel punca embrionik terbentuk dari massa sel bagian dalam dari blastocyst pre-implantasi (Rosellini, 2015).

Sel induk (SC) memiliki kapasitas untuk menghasilkan satu atau lebih jaringan khusus yang bertanggung jawab pada suatu organisme dalam penyembuhan suatu jenis cedera tertentu. Penggunaan *Stem Cells* sebagai sel induk mesenkimal (MSCs) menjadi lebih realistis dalam perbaikan kulit dan jaringan parut. *Mesenchymal Stem Cells* dapat diisolasi dari sumsum tulang (BM) dan jaringan lainnya seperti jaringan adiposa, darah tali pusat dan jaringan kulit. *Stem Cells* memiliki kemampuan pembaharuan diri dan bersifat multipotensi. *Bone Marrow-Mesenchymal Stem Cells* dapat dibedakan menjadi beberapa jenis sel kulit, seperti keratinosit dan fibroblas yang berkontribusi terhadap perbaikan kulit dan perbaikan luka termasuk penyembuhan luka bakar (Ibrahim, 2014).

Penelitian yang dilakukan oleh (Velazquez, *et al*, 2007) melaporkan bahwa penyembuhan luka bakar akan semakin cepat setelah dilakukan pemberian aspirat sumsum tulang karena sel inflamasi dari sumsum tulang segera dihantarkan ke dalam luka. Selain dari sumsum tulang, ekstrak sel punca mesenkimal juga dapat diperoleh dari darah tali pusat dan memiliki efek

terapeutik yang sama dengan sel punca mesenkimal pada sumsum tulang. Sel punca mempunyai sinyal parakrin yang dapat merangsang sekresi sitokin, faktor pertumbuhan dan mediator kimia lainnya. Selain itu, sel punca juga dapat menekan proses inflamasi dengan cara menurunkan kadar sitokin pro-inflamasi sehingga dapat mempercepat prosees penyembuhan luka serta memiliki sifat imunomodulator yang unik sehingga dapat digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit inflamasi dan memperbaiki kerusakan jaringan dengan cara mendukung proses regenerasi jaringan (Rosellini, 2015). Studi klinis telah menunjukkan bahwa sel punca mesenkimal berhasil digunakan untuk pengobatan dermatitis atopik (Shin, *et al*., 2017).

Berdasarkan penjelasan di atas, penelitian lebih lanjut untuk mempelajari potensi tali pusat sebagai terapi adalah suatu hal yang menarik karena tali pusat memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan dan dapat menjadi obat alternatif lain terhadap penyembuhan luka bakar. Oleh karena itu, peneliti akan melakukan penelitian untuk mengetahui perbedaan jumlah sel radang PMN dan MN pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan *silver sulfadiazine* pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah terdapat perbedaan jumlah sel radang PMN dan MN pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan *silver sulfadiazine* pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui perbedaan jumlah sel radang PMN pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan *silver sulfadiazine* pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*
2. Mengetahui perbedaan jumlah sel radang MN pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan *silver sulfadiazine* pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat bagi Penulis

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

1.4.2 Manfaat bagi Peneliti Lain

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

1.4.3 Manfaat bagi Instansi Terkait

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

1.4.4 Manfaat bagi Masyarakat

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

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Struktur dan Fungsi Kulit

Kulit merupakan organ terbesar tubuh, terdiri dari lapisan sel di permukaan yang disebut dengan *epidermis*, dan lapisan jaringan ikat yang lebih dalam, dikenal sebagai dermis. Kulit berguna untuk:

1. Perlindungan terhadap cedera dan kehilangan cairan, misalnya pada luka bakar ringan
2. Pengaturan suhu tubuh melalui kelenjar keringat dan pembuluh darah
3. Sensasi melalui saraf kulit dan ujung akhirnya yang bersifat sensoris, misalnya untuk rasa sakit (Moore, 2002).

Kulit merupakan pembungkus yang elastis yang terletak paling luar yang melindungi tubuh dari pengaruh lingkungan hidup manusia dan merupakan alat tubuh yang terberat dan terluas ukurannya, yaitu kira-kira 15% dari berat tubuh dan luas kulit orang dewasa 1,5 m2 (Djuanda, 2007). Kulit terdiri atas 2 lapisan utama yaitu epidermis dan dermis. Epidermis merupakan jaringan epitel yang berasal dari ektoderm, sedangkan dermis merupakan jaringan ikat sedikit padat yang berasal dari mesoderm. Pada bagian bawah lapisan dermis terdapat selapis jaringan ikat longgar yaitu hipodermis (Kalangi, 2013).

2.1.1 Epidermis

Epidermis merupakan lapisan paling luar kulit yang terdiri atas epitel berlapis gepeng dengan lapisan tanduk. Epidermis hanya terdiri dari jaringan epitel. Lapisan ini tidak mempunyai pembuluh darah dan pembuluh limfa. Oleh karena itu, semua nutrien dan oksigen diperoleh dari kapiler pada lapisan dermis. Epitel berlapis gepeng pada epidermis tersusun oleh banyak lapisan sel yang disebut keratinosit (Kalangi, 2013).

Sel-sel ini akan diperbarui melalui pembelahan mitosis oleh sel-sel di dalam lapisan basal yang secara berangsur akan bergeser ke permukaan epitel. Selama perjalanannya, sel-sel ini akan berdiferensiasi, membesar, dan mengumpulkan filamen keratin dalam sitoplasmanya. Selain itu, sel-sel ini juga dapat bermodifikasi menjadi struktur yang disebut sitomorfosis. Pada bagian yang mendekati permukaan, sel-sel ini akan mati dan terkelupas. Lapisan epidermis terdiri atas 5 lapisan dari dalam ke luar yaitu, stratum basal, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidum, dan stratum korneum (Kalangi, 2013).

2.1.1.1 Stratum Basal

Lapisan ini terletak paling dalam. Lapisan ini terdiri atas satu lapis sel yang tersusun berderet di atas membran basal dan melekat pada dermis di bawahnya. Sel-sel ini berbentuk

kuboid atau silindris. Inti sel besar dan sitoplasmanya bersifat basofilik. Pada lapisan ini terlihat gambaran mitotik sel. Sel ini berfungsi untuk regenerasi epitel. Selain itu, sel-sel pada lapisan ini akan bermigrasi ke permukaan untuk memasok nutrien sel-sel pada lapisan yang lebih superfisial (Kalangi, 2013).

2.1.1.2 Stratum spinosum

Lapisan ini terdiri atas beberapa lapis sel yang berukuran besar dan berbentuk poligonal dengan inti lonjong. Sitoplasma berwarna kebiruan. Bila dilakukan pengamatan dengan pembesaran obyektif 45x, maka pada dinding sel yang berbatasan dengan sel di sebelahnya akan terlihat taju yang seolah-olah menghubungkan sel yang satu dengan yang lainnya. Pada taju inilah terletak desmosom yang melekatkan sel yang satu dengan lainnya pada lapisan ini. Semakin ke atas bentuk sel akan semakin gepeng (Kalangi, 2013).

2.1.1.3 Stratum Granulosum

Lapisan ini terdiri atas 2-4 lapis sel gepeng yang mengandung banyak granula basofilik disebut granula keratohialin. Jika dilihat dengan mikroskop elektron tampak seperti partikel amorf tanpa membran tetapi dikelilingi

ribosom. Pada lapisan ini terdapat mikrofilamen yang melekat pada permukaan granula (Kalangi, 2013).

2.1.1.4 Stratum Lusidum

Lapisan ini dibentuk oleh 3 lapisan sel gepeng yang tembus cahaya dan sedikit eosinofilik. Tidak ada inti maupun organel pada lapisan ini. Walaupun terdapat sedikit desmosom, tetapi pada lapisan ini adhesi kurang sehingga pada sajian seringkali tampak garis celah yang memisahkan stratum korneum dari lapisan lain di bawahnya (Kalangi, 2013).

2.1.1.5 Stratum Korneum

Lapisan ini terdiri atas banyak lapisan sel-sel mati, pipih dan tidak berinti serta sitoplasma yang digantikan oleh keratin. Sel-sel yang terdapat pada permukaan merupakan sisik zat tanduk yang terdehidrasi dan selalu terkelupas (Kalangi, 2013).

2.1.2 Dermis

Dermis terdiri atas stratum papilaris dan stratum retikularis. Batas antara kedua lapisan ini tidak tegas dan serat diantara lapisan ini saling terjalin (Kalangi, 2013).

2.1.2.1 Stratum Papilaris

Lapisan ini tersusun lebih longgar. Lapian ini ditandai dengan adanya papila dermis yang jumlahnya bervariasi yaitu antara 50–250/mm^2. Jumlah terbanyak terdapat pada daerah dimana tekanan paling besar, seperti pada telapak kaki. Sebagian besar papila mengandung pembuluh-pembuluh kapiler yang memberi nutrisi pada epitel di atasnya. Papila lainnya mengandung badan akhir saraf sensoris yaitu badan *Meissner* (Kalangi, 2013).

2.1.2.2 Stratum Retikularis

Lapisan ini lebih tebal dan dalam. Berkas-berkas kolagen tampak kasar dan sejumlah kecil serat elastin membentuk jalinan yang padat dan ireguler. Pada bagian lebih dalam, jalinan lebih terbuka, rongga-rongga diantaranya terisi jaringan lemak, kelenjar keringat dan sebasea serta folikel rambut. Serat otot polos juga ditemukan pada tempat-tempat tertentu, seperti folikel rambut, skrotum, preputium, dan puting payudara. Pada kulit wajah dan leher, serat otot skelet menyusup pada jaringan ikat pada lapisan dermis. Otot-otot ini berperan sebagai ekspresi wajah. Lapisan retikular akan menyatu dengan hipodermis atau fasia superfisialis di bawahnya dan membentuk jaringan ikat

longgar yang banyak mengandung sel lemak (Kalangi, 2013).

2.1.2.3 Kelenjar Sebasea

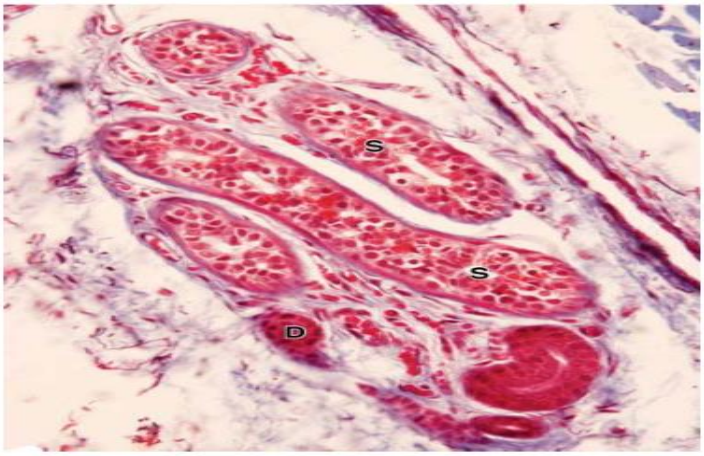
Kelenjar sebasea atau kelenjar rambut merupakan kelenjar holokrin yang terdapat pada seluruh kulit yang berambut. Hampir semua kelenjar sebasea bermuara ke dalam folikel rambut kecuali yang terdapat pada puting susu, kelopak mata, glans penis, klitoris, dan labium minus. Kelenjar sebasea yang berhubungan dengan folikel rambut terdapat pada sisi yang sama dengan otot penegak rambut (*m. arrector pili*).

Gambar 1. Kelenjar sebasea (Mescher, 2010).

2.1.2.4 Kelenjar Keringat

Kelenjar keringat terbagi menjadi dua jenis, yaitu kelenjar keringat merokrin dan apokrin. Perbedaan dari kedua kelenjar tersebut terletak pada cara sekresinya. Kelenjar

merokrin bergetah encer (banyak mengandung air) terdapat di seluruh permukaan tubuh kecuali daerah yang berkuku. Kelenjar ini berfungsi menggetahkan keringat yang berguna untuk mengatur suhu tubuh. Kelenjar apokrin hanya terdapat pada kulit daerah tertentu, misalnya areola mamma, ketiak, sekitar dubur, kelopak mata, dan labium mayus. Kelenjar ini bergetah kental dan baru berfungsi setelah pubertas. Kelenjar bergetah lilin seperti kelenjar serumen dan kelenjar *Moll* juga tergolong dalam kelenjar ini. Kelenjar merokrin dan apokrin dilengkapi dengan sel mioepitel (Kalangi, 2013).

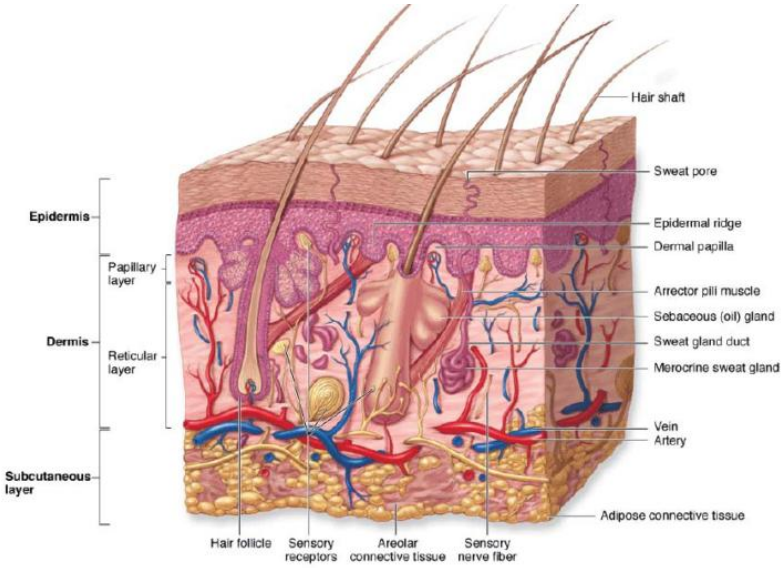


Gambar 2. Kelenjar keringat (Mescher, 2010).

2.1.3 Hipodermis

Sebuah lapisan subkutan di bawah retikularis dermis disebut hipodermis. Lapisan ini berupa jaringan ikat lebih longgar dengan serat kolagen halus sejajar terhadap permukaan kulit dengan

beberapa di antaranya menyatu dengan lapisan dermis (Kalangi 2013). Lapisan ini juga disebut *fascia superficialis* yang mengandung sel-sel lemak yang jumlahnya bervariasi sesuai daerah tubuh (Mescher, 2011).



Gambar 3. Lapisan-lapisan dan apendiks kulit. Diagram lapisan kulit memperlihatkan saling hubung dan lokasi apendiks dermal (folikel rambut, kelenjar keringat, dan kelenjar sebasea) (Mescher, 2010).

2.2 Luka

2.2.1 Definisi Luka

Luka adalah suatu kedaan ketidaksinambungan atau terputusnya kontinuitas jaringan yang diebabkan oleh kekerasan. Kekerasan dapat bersifat mekanik (benda tumpul, benda tajam, senjata api), fisika (suhu, listrik dan petir, perubahan tekanan udara, akustik,

radiasi), dan kimia (asam/basa kuat) (Tambayong, 2000; Venita & Budiningsih, 2014).

Luka dapat diklasifikasikan berdasarkan struktur anatomis, sifat, proses penyembuhan dan lama penyembuhan. Adapun berdasarkan sifat yaitu abrasi, kontusio, insisi, laserasi, terbuka, penetrasi. Sedangkan klasifikasi berdasarkan struktur lapisan kulit meliputi superfisial yang melibatkan lapisan epidermis, *partial thickness* yang melibatkan lapisan epidermis dan dermis, dan *full thickness* yang melibatkan epidermis, dermis, lapisan lemak, fascia dan bahkan sampai ke tulang (Darwin, 2016).

2.2.2 Klasifikasi Luka

Luka dapat dibedakan menjadi akut dan kronis berdasarkan lama penyembuhannya. Luka akut adalah penyembuhan luka yang terjadi dalam 2-3 minggu. Sedangkan luka kronis adalah segala jenis luka yang tidak ada tanda-tanda sembuh dalam jangka waktu lebih dari 4-6 minggu. Berdasarkan penyebabnya, luka dibagi menjadi (Kartika, 2015):

1. Luka Akibat Benda Tumpul

a. Memar

Luka memar atau disebut juga kontusio merupakan perdarahan dalam jaringan di bawah kulit akibat pecahnya

kapiler dan vena. Letak, bentuk, dan luas memar dipengaruhi besarnya kekerasan, jenis benda penyebab, kondisi dan jenis jaringan, usia jenis kelamin, komposisi tubuh, corak dan warna kulit, kerapuhan pembuluh darah, dan penyakit (Venita & Budiningsih, 2014).

b. Luka Lecet

Luka lecet terjadi akibat epidermis yang bersentuhan dengan benda yang permukaannya kasar atau runcing (Venita & Budiningsih, 2014).

c. Luka Robek

Luka robek adalah suatu luka terbuka akibat kekerasan tumpul yang kuat sehingga melampaui elastisitas kulit atau otot. Ciri dari luka robek adalah tepi tidak rata, bentuk tidak beraturan, akar rambut tampak hancur, dan seringkali ada luka lecet atau memar di sekitarnya (Venita & Budiningsih, 2014).

2. Luka akibat Benda Tajam

Luka terbuka yang terjadi akibat benda dengan sisi tajam atau ujung runcing, tampak memiliki tepi dan dinding luka yang rata, berbentuk garis dan dasar luka berbentuk garis atau titik.

Jenis luka benda tajam antara lain (Venita & Budiningsih, 2014):

a. Luka Bacok

Luka bacok memiliki kedalaman luka sama dengan panjang luka, arah kekerasan miring dengan kulit.

b. Luka Tusuk

Kedalaman luka lebih dari panjang luka, arah kekerasan tegak lurus dengan kulit.

c. Luka Tangkis

Akibat perlawanan korban dan lukanya terdapat di bagian ekstremitas.

d. Luka Sayat

Luka lebar dengan tepi dangkal, arah luka sejajar dengan kulit.

2.2.3 Fase-fase penyembuhan luka

Proses penyembuhan luka terdiri atas fase inflamasi, proliferasi, dan juga remodeling. Penyembuhan luka adalah suatu bentuk proses usaha untuk memperbaiki kerusakan yang terjadi. Komponen utama dalam proses penyembuhan luka selain epitel adalah kolagen. Fibroblas adalah sel yang bertanggung jawab

untuk sintesis kolagen. Fisiologi penyembuhan luka secara alami akan mengalami fase-fase seperti dibawah ini.

a. Fase inflamasi

Pada fase inflamasi ini terjadi proses vasokonstriksi, hemostasis, dan juga infiltrasi sel inflamasi. Fase ini dimulai sejak terjadinya luka sampai hari kelima. Segera setelah terjadinya luka, pembuluh darah yang putus mengalami konstriksi dan retraksi disertai reaksi hemostasis karena agregasi trombosit. Komponen hemostasis ini akan melepaskan dan mengaktifkan sitokin yang meliputi *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Insulin-like Growth Factor* (IGF), *Plateled Derived Growth Factor* (PDGF) dan *Transforming Growth Factor Beta* (TGF-β) yang berperan untuk terjadinya kemotaksis netrofil, makrofag, mast sel, sel endotelial dan fibroblas. Keadaan ini disebut fase inflamasi. Pada fase ini kemudian terjadi vasodilatasi dan akumulasi leukosit *Polymorphonuclear* (PMN) (Darwin, 2016).

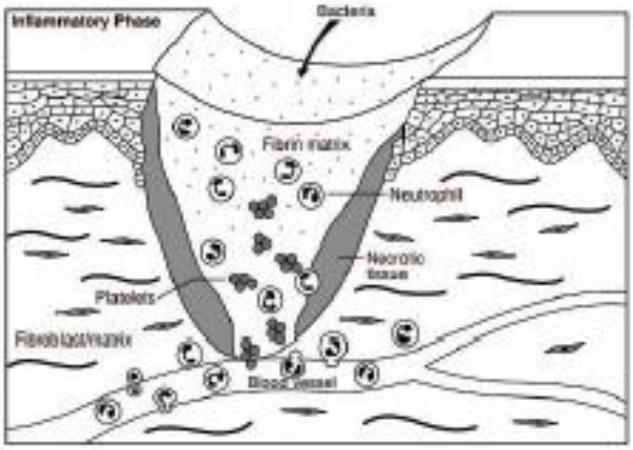
Dalam fase ini terjadi akumulasi sel-sel radang pada daerah yang terluka yang disebabkan oleh respon vaskular dan seluler. Pada fase vaskular, pembuluh darah yang robek akan menyebabkan perdarahan dan tubuh akan mencoba menghentikannya melalui vasokonstriksi, pengerutan ujung pembuluh darah yang putus, dan reaksi homeostatis. Pada

fase ini terjadi aktivitas seluler yaitu dengan pergerakan leukosit menembus dinding pembuluh darah (diapedesis) menuju luka karena daya kemotaksis. Leukosit mengeluarkan enzim hidrolitik yang membantu mencerna bakteri dan debris pada luka. Beberapa jam setelah luka, terjadi infiltrasi sel inflamasi pada jaringan luka. Sel polimorfonuklear atau makrofag merupakan sel paling dominan pada fase ini selama lima hari dengan jumlah paling tinggi pada hari ke-dua sampai hari ke-tiga. Pada fase ini, luka hanya dibentuk oleh jalinan fibrin yang sangat lemah. Setelah proses inflamasi selesai, maka akan dimulai fase proliferasi pada proses penyembuhan luka (Darwin, 2016).

Tanda-tanda inflamasi (peradangan) yaitu (Darwin, 2016):

1. Rubor (kemerahan) terjadi karena banyak darah mengalir ke dalam mikrosomal lokal pada tempat peradangan.
2. Kalor (panas) dikarenakan lebih banyak darah yang disalurkan pada tempat peradangan dari pada yang disalurkan ke daerah normal.
3. Dolor (nyeri) dikarenakan pembengkakan jaringan mengakibatkan peningkatan tekanan lokal dan juga karena ada pengeluaran zat histamin dan zat kimia bioaktif lainnya.

4. Tumor (pembengkakan) pengeluaran ciran-cairan ke jaringan interstisial.
5. *Functio laesa* (perubahan fungsi) adalah terganggunya fungsi organ tubuh.

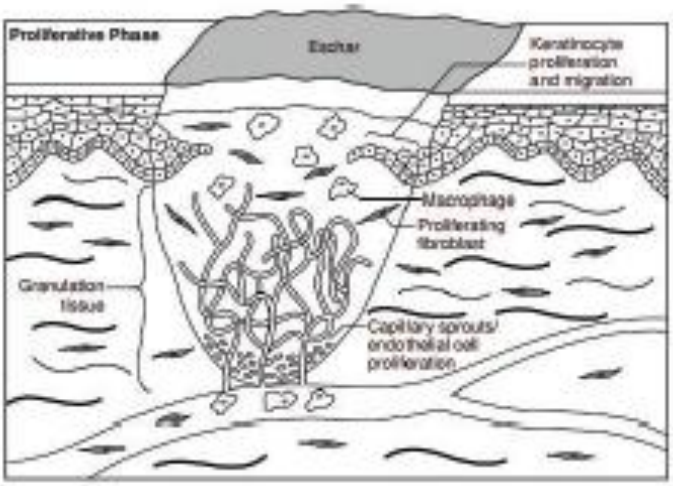


Gambar 4. Fase Inflamasi (Kartika, 2015)

b. Fase proliferasi

Fase proliferasi berlangsung dari akhir fase inflamasi sampai kira-kira akhir minggu ketiga. Fase proliferasi dibuktikan adanya proses angiogenesis yang ditandai dengan terbentuknya formasi pembuluh darah baru dan dimulainya pertumbuhan saraf pada ujung luka. Pada keadaan ini, keratinosit berpoliferasi dan berimigrasi dari tepi luka untuk melakukan epitelisasi menutup permukaan luka dan menyediakan barier pertahanan alami terhadap kontaminan dari infeksi dari luar. Epitel tepi luka yang terdiri atas sel basal akan terlepas dari dasarnya dan berpindah mengisi permukaan luka. Tempatnya kemudian diisi oleh sel baru yang terbentuk dari proses

mitosis. Fase ini disebut fibroplasi karena pada masa ini fibroblas memiliki pera yang dominan. Fibroblas mengalami proliferasi dan mensintesis kolagen, serat kolagen yang terbentuk menyebabkan adanya kekuatan untuk bertautnya tepi luka. Pada fase ini mulai terjadi granulasi, kontraksi luka dan epitelialisasi. Proses ini baru terhenti ketika sel epitel saling menyentuh dan menutup seluruh permukaan luka. Dengan tertutupnya permukaan luka dan dengan pembentukan jaringan granulasi, maka proses fibroplasia akan berhenti dan dimulailah dalam fase maturasi (Darwin, 2016).



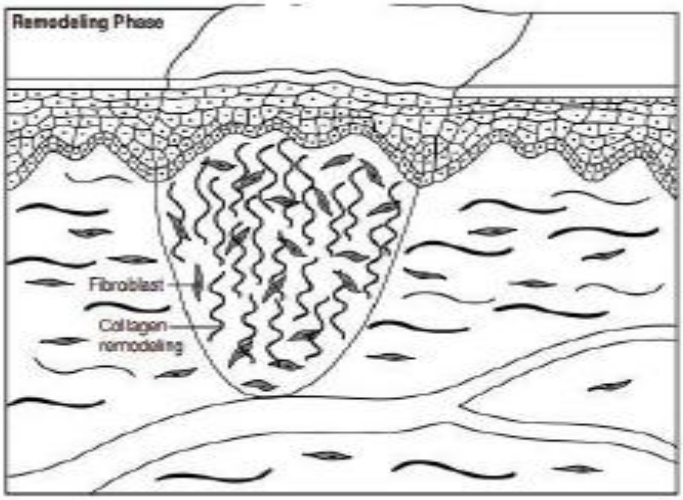
Gambar 5. Fase Proliferasi (Kartika, 2015)

c. Fase maturasi

Fase maturasi ditandai dengan adanya prose maturasi suatu jaringan dan kolagen, maturasi epidermis, dan pengerutan luka. Fase ini merupakan fase yang terakhir dan terpanjang pada proses penyembuhan luka. Pada fase ini terjadi proses yang dinamis berupa *remodelling* kolagen, kontraksi luka dan pematangan parut. Aktivitas

sintesis dan degradasi kolagen berada dalam keseimbangan. Fase ini berlangsung mulai 3 minggu sampai 2 tahun. Akhir dari faseini didapatkan parut luka yang matang yang mempunyai kekuatan 80% dari kulit normal (Darwin, 2016).

Kejadian penyembuhan luka dapat terhambat apabila kemampuan alami jaringan untuk memperbaiki diri berkurang dan penanganan yang dilakukan terhadap luka tidak baik. Pada fase penyembuhan luka, kolagen merupakan protein yang terbanyak pada matriks ekstraselular kulit dan berfungsi untuk mengisi matriks ekstraselular. Kolagen dibentuk sejak hari ke-3 dan akan tampak nyata jumlahnya di hari ke-7 setelah luka, dan mulai stabil dan terorganisir sekitar hari ke-14 (Darwin, 2016).



Gambar 6. Fase Maturasi (Kartika, 2015)

Penyembuhan luka sudah banyak diteliti pada hewan dengan 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 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 (Galiano *et al.*, 2004). 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 Luka Bakar

2.3.1 Definisi Luka Bakar

Luka bakar merupakan cedera atau injuri sebagai akibat kontak langsung atau terpapar dengan sumber-sumber panas (*thermal*), listrik (*electric*), zat kimia (*chemycal*), atau radiasi (*radiation*) (Rahayuningsih, 2012). Luka bakar dengan ketebalan parsial merupakan luka bakar yang tidak merusak epitel kulit atau hanya merusak sebagian dari epitel. Luka bakar dengan ketebalan penuh merusak semua sumber-sumber pertumbuhan kembali epitel kulit dan bisa membutuhkan eksisi dan cangkok kulit jika luas (Grace, 2006).

2.3.2 Etiologi Luka Bakar

Penyebab tersering menurut Grace (2006) adalah:

a. Trauma suhu yang berasal dari sumber panas yang kering atau sumber panas yang lembab
b. Listrik
c. Kimia
d. Radiasi

2.3.3 Derajat dan luas luka bakar

Luka bakar biasanya dinyatakan dengan derajat yang ditentukan oleh kedalaman luka bakar. Walaupun demikian, beratnya luka bergantung pada dalam, luas dan letak luka. Umur dan keadaan kesehatan penderita sebelumnya akan sangat mempengaruhi prognosis. Kedalaman luka bakar ditentukan oleh tingginya suhu dan lamanya pajanan suhu tinggi (Sjamsuhidajat, 2004).

a. Luka bakar derajat I

Luka bakar derajat I hanya mengenai epidermis dan biasanya sembuh dalam 5−7 hari; misalnya tersengat matahari. Luka tampak sebagai eritema dengan keluhan rasa nyeri atau hipersensitivitas setempat (Sjamsuhidajat, 2004).

b. Luka bakar derajat II

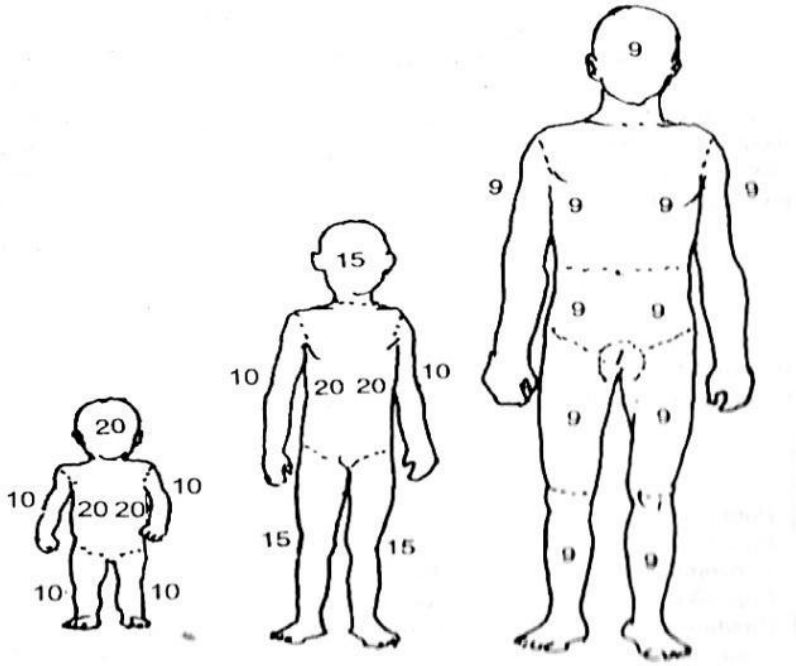
Luka bakar derajat II mencapai kedalaman dermis, tetapi masih ada elemen epitel sehat yang tersisa. Elemen epitel tersebut, misalnya sel epitel basal, kelenjar sebasea, kelenjar keringat, dan pangkal rambut. Dengan adanya sisa sel epitel ini, luka dapat sembuh sendiri dalam 2 sampai 3 minggu. Gejala yang timbul adalah nyeri, gelembung, atau bula berisi cairan eksudat yang keluar dari pembuluh darah karena permeabilitas dindingnya meninggi (Sjamsuhidajat, 2004).

c. Luka bakar derajat III

Luka bakar derajat III meliputi seluruh kedalaman kulit dan sampai subkutis, atau organ yang lebih dalam. Tidak ada lagi elemen epitel hidup yang tersisa yang memungkinkan penyembuhan dari dasar luka. Oleh karena itu, untuk mendapatkan kesembuhan harus dilakukan cangkok kulit. Kulit tampak pucat, abu-abu, gelap atau hitam, dengan permukaan lebih rendah dari jaringan sekeliling yang masih sehat (Sjamsuhidajat, 2004).

Luas luka bakar dinyatakan dalam persen terhadap luas seluruh tubuh. Pada orang dewasa digunakan rumus 9, yaitu luas kepala dan leher, dada, punggung, perut, pinggang dan bokong, ekstremitas atas kanan, ekstremitas atas kiri, paha kanan, paha kiri, tungkai dan kaki kanan, serta tungkai dan kaki kiri masing-masing 9%, sisanya 1% adalah daerah genitalia. Rumus ini membantu menaksir luasnya permukaan tubuh yang terbakar pada orang dewasa. Pada anak dan bayi digunakan rumus lain karena luas permukaan relatif kepala anak jauh lebih besar dan luas relatif permukaan kaki lebih kecil. Karena perbandingan luas permukaan bagian tubuh anak kecil berbeda, dikenal rumus 10 untuk bayi dan rumus 10−15−20 untuk anak. Untuk anak, kepala dan leher 15%, badan depan dan belakang masing-masing 20%, esktremitas atas kanan dan kiri

masing-masing 10%, ekstremitas bawah kanan dan kiri masing-masing 15% (Sjamsuhidajat, 2004).



Gambar 7. Luasnya luka bakar (Sjamsuhidajat, 2004)

Wallace membagi tubuh atas bagian-bagian 9% atau kelipatan dari 9, terkenal dengan nama *Rule of Nine* atau *Rule of Wallace* (Sjamsuhidajat, 2004).

1. Kepala dan leher : 9 %
2. Lengan : 18 %
3. Badan Depan : 18 %
4. Badan Belakang : 18 %
5. Tungkai : 36 %
6. Genitalia/perineum : 1 %

Jadi, total nilai untuk keseluruhan bagian tubuh bila dijumlahkan menjadi 100%.

2.3.4 Patofisiologi Luka Bakar

Dampak pertama yang ditimbulkan luka bakar adalah syok karena kaget dan kesakitan. Pembuluh kapiler yang terpajan suhu tinggi mengalami kerusakan dan peningkatan permeabilitas. Sel darah yang ada di dalamnya ikut rusak sehingga dapat terjadi anemia. Meningkatnya permeabilitas menyebabkan edema dan menimbulkan bula yang mengandung banyak elektrolit, hal itu menyebabkan berkurangnya volume cairan intravaskular. Kerusakan kulit akibat luka bakar menyebabkan kehilangan cairan dikarenakan adanya penguapan yang berlebihan, masuknya cairan ke bula yang terbentuk pada luka bakar derajat II, dan pengeluaran cairan dari keropeng luka bakar derajat III. Setelah 12−24 jam, permeabilitas kapiler mulai membaik dan terjadi mobilisasi serta penyerapan kembali cairan edema ke pembuluh darah, hal ini ditandai dengan meningkatnya diuresis (Sjamsuhidajat, 2004).

Luka bakar sering tidak steril. Kontaminasi dapat terjadi pada kulit mati yang merupakan medium yang baik untuk pertumbuhan kuman, sehingga akan mempermudah terjadinya infeksi. Infeksi ini sulit diatasi karena daerahnya tidak tercapai oleh pembuluh kapiler yang mengalami trombosis. Kuman penyebab infeksi pada luka bakar, selain berasal dari dari kulit penderita sendiri, juga dari kontaminasi kuman saluran napas atas dan kontaminasi kuman di lingkungan rumah sakit. Bila penderita dapat mengatasi infeksi,

luka bakar derajat II dapat sembuh dengan meninggalkan cacat berupa parut. Penyembuhan ini dimulai dari sisa elemen epitel yang masih vital, misalnya sel kelenjar sebasea, sel basal, sel kelenjar keringat, atau sel pangkal rambut. Luka bakar derajat II yang dalam mungkin meninggalkan parut hipertrofik yang nyeri, gatal, kaku dan secara estetik jelek. Luka bakar derajat III yang dibiarkan sembuh sendiri akan mengalami kontraktur. Bila terjadi di persendian, fungsi sendi dapat berkurang atau hilang (Sjamsuhidajat, 2004).

2.3.5 Gambaran Klinis Luka Bakar

Menurut Grace (2006), gambaran klinis dapat dilihat dari keadaaan umum dan khusus berupa:

1. Umum:
   a. Nyeri
   b. Pembengkakan dan lepuhan
2. Khusus:
   a. Bukti adanya inhalasi asap seperti jelaga pada hidung atau sputum, luka bakar dalam mulut, dan suara serak
   b. Luka bakar pada mata atau alis mata
   c. Luka bakar sirkumferensial

2.4 Inflamasi

Inflamasi merupakan respon protektif atau reaksi jaringan terhadap semua bentuk jejas, dimana dalam reaksi ini terdapat peran pembuluh darah, saraf, cairan, dan sel-sel tubuh pada tempat jejas (Robbins dan Kumar, 1995).

1. Inflamasi Akut

Inflamasi akut merupakan reaksi langsung dari tubuh terhadap cedera atau kematian sel. Inflamasi ini terjadi dalam beberapa jam hingga hari. Penyebab utama inflamasi akut adalah infeksi mikrobial (bakteri, virus), reaksi hipersensitivitas (parasit), agen fisik (trauma, panas, dingin), kimia (korosif, asam, basa, agen pengurai toksin bakteri) dan jaringan nekrotik atau infark. Penyebab lain dari inflamasi akut adalah reaksi imunologis. Pada inflamasi akut terjadi adhesi polimorfonuklear neutrofil pada endotel pembuluh darah (Dyaningsih, 2007).

2. Inflamasi Kronik

Inflamasi kronik merupakan reaksi tubuh terhadap cedera atau kematian sel yang berlangsung lebih dari 4-6 minggu hingga bertahun-tahun. Hal ini menunjukkan bahwa tubuh berusaha untuk memobilisasi agen penyebab dan memperbaiki kerusakan jaringan. Pada inflamasi kronik terdapat infiltrasi sel radang Mononuklear dan proliferasi fibroblas (Dyaningsih, 2007).

2.5 *Silver Sulfadiazine*

Silver sulfadiazine merupakan *gold standard* untuk terapi topikal pada luka bakar (Koller, 2004). Obat ini menghambat pertumbuhan in vitro hampir semua bakteri, jamur patogen, termasuk beberapa spesies yang resisten terhadap sulfonamida. Senyawa ini digunakan secara topikal untuk mengurangi kolonisasi mikroba dan insiden infeksi pada luka bakar (Goodman dan Gilman, 2007).

Krim ini terdiri dari 2 komponen zat aktif yaitu *silver* dan *sulfadiazine* dengan kadar 1% yang terdispersi secara merata dalam bentuk butiran-butiran halus dengan bahan dasar atau zat pembawa berbentuk krim dan bersifat hidrofilik. Komponen zat ini bersifat bakteriostatik dan mempunyai spektrum luas terhadap kuman gram positif dan gram negatif. Komponen zat pembawa (vehikulum) berupa emulsi o/w (oil in water) yang larut dalam air sehingga krim ini memberikan rasa sejuk bila dioleskan pada kulit dan mudah untuk dibersihkan. Pengemulsian ini juga berguna untuk meningkatkan kecepatan absorbsi perkutan dan mempermudah penetrasi ke dalam luka bakar (Widagdo, 2004).

Krim ini tidak bersifat toksik terhadap jaringan sehat dan konsentrasi dalam serum rendah (<2 mg%) serta tidak diserap oleh tubuh. Pada penggunaan jangka panjang tidak menyebabkan gangguan fungsi ginjal, gangguan elektrolit maupun gangguan hematologi. Namun krim ini menyebabkan penyembuhan luka yang lambat, epitelisasi yang tidak

lengkap, hiperpigmentasi kulit, dan toksisitas dari *silver* (Widagdo, 2004).

2.6 Sel Punca

Sel punca merupakan sel yang belum berdiferensiasi dan mempunyai potensi yang sangat tinggi untuk berkembang menjadi banyak jenis sel yang berbeda di dalam tubuh. Sel punca juga berfungsi sebagai sistem perbaikan untuk mengganti sel-sel tubuh yang telah rusak (Djauhari, 2010).

Sel punca memiliki 2 sifat penting, yaitu :

a. Sel punca belum merupakan spesialisasi fungsi tetapi dapat memperbarui diri dengan pembelahan bahkan setelah tidak aktif dalam waktu yang panjang (Djauhari, 2010).
b. Dalam situasi tertentu, sel punca dapat diinduksi untuk menjadi sel dengan fungsi tertentu seperti sel organ maupun sel jaringan yang mempunyai tugas tersendiri. Sel punca secara teratur dapat membelah dan memperbaiki jaringan yang rusak pada sumsum tulang dan darah tali pusat.

Berdasarkan potensi, sel punca dibagi menjadi (Djauhari NS, 2010) :

Tabel 1. Perbedaan potensi dari sel punca totipotent ke sel punca nulipotent (Djauhari, 2010)

Diferensiasi Potensi	Jumlah Jenis Sel	Contoh Sel	Jenis Sel yang dihasilkan dari diferensiasi
Totipotential	Semua	Blastomere Zigot (telur dibuahi)	Semua jenis sel
Prulipotential	Semua membran kecuali sel dari membran embrio	Sel embrional (ektoderm, endoderm, mesoderm)	Semua jenis sel
Multipotential	Banyak	Sel Hematopoietik	Otot rangka, otot jantung, sel hati, semua sel darah
Oligopotential	Beberapa	Jaringan myeloid atau limfoid	Semua jenis sel darah (Monosit, makrofag, eosinofil, neutrofil, eritrosit)
Quadripotential	4	*Mesenchymal progenitor cell*	Sel-sel tulang rawan, sel-sel lemak, sel stroma, pembentuk sel-sel tulang
Tripotential	3	*Glial-rectricted precursor Glial* dibatasi prekursor	2 jenis sel astrosit, oligodendrocytes
Bipontential	2	Bipotential prekursor dari hati janin	Sel-sel B, makrofag
Unipotential	1	Sel Mast prekursor	Sel mast
Nulipotential	Tak satupun	Akhir dari sel misalnya sel darah merah	Pembelahan sel

Berdasarkan asalnya, sel punca terbagi menjadi:

a. Sel Punca Embrio

Sel induk ini diambil dari embrio pada fase blastosit (5-7 setelah pembuahan). Masa sel bagian dalam mengelompok dan mengandung sel-sel induk embrionik. Sel induk embrional dapat diarahkan menjadi semua jenis sel yang dijumpai pada organisme dewasa, seperti sel darah, sel-sel otot, sel-sel hati, sel-sel ginjal dan sebagainya (Djauhari, 2010).

b. Sel Germinal atau Benih Embrionik

Sel gernimal atau benih embrionik termasuk sel punca yang berasal dari sel germinal primordial dari janin berumur 5-9 minggu. Sel punca jenis ini memiliki sifat plurupotensi (Djauhari, 2010).

c. Sel Punca Fetal

Sel punca fetal adalah sel primitif yang dapat ditemukan pada organ-organ fetus (janin) seperti sel punca hematopoietik fetal dan progenitor kelenjar pankreas (Djauhari, 2010).

d. Sel Punca Dewasa

Sel punca dewasa mempunyai dua karakteristik. Karakteristik pertama adalah sel-sel tersebut dapat berproliferasi untuk periode yang panjang guna memperbarui diri. Karakteristik kedua, sel-sel tersebut dapat berdiferensiasi untuk menghasilkan sel-sel khusus yang mempunyai karakteristik morfologi dan fungsi yang spesial (Djauhari, 2010).

e. Sel Punca Hematopoietik

Salah satu macam sel induk dewasa adalah sel induk hematopoietik, yaitu sel induk pembentuk darah yang mampu sel darah merah, sel darah putih, dan keping darah. Sumber sel induk hematopoietik adalah sumsum tulang belakang, darah tepi, dan darah tali pusat. Pembentukannya terjadi pada tahap awal embriogenesis yaitu dari mesoderm dan disimpan pada situs-situs spesifik di dalam embrio (Djauhari, 2010).

f. Sel Punca Mesenkimal

Sel induk mesenkimal (MSC/*Mesenchymal Stem Cell*) dapat ditemukan pada stroma sumsum tulang belakang, periosteum, lemak, dan kulit. *Mesenchymal Stem Cell* termasuk sel induk multipotensi yang dapat berdiferensiasi menjadi sel-sel tulang, otot, ligamen, tendon, dan lemak. Namun ada beberapa bukti yang menyatakan bahwa sebagian *Mesenchymal Stem Cell* bersifat pluripotensi sehingga tidak hanya dapat berubah menjadi jaringan mesodermal tetapi juga endodermal (Djauhari, 2012).

2.6.1 Mekanisme Sel Punca

Penelitian menunjukkan bahwa sel punca memiliki 2 kerja utama yaitu memperlambat respons inflamasi sistemik dan berperan dalam penyembuhan luka. *Mesenchymal Stem Cell* meningkatkan sitokin inflamasi, seperti IL-10 dan IL-12, serta menurunkan kadar sitokin pro-inflamasi, seperti

interferon gamma, IL-1, IL-6, dan protein inflamasi makrofag-1 α. Pada tikus, *Mesenchymal Stem Cell* terbukti memiliki efek anti-apoptosis, meningkatkan kadar Bcl-2 dan menekan kerja enzim caspase.

Mesenchymal Stem Cell berperan dalam penyembuhan luka. Cedera akan menyebabkan multiplikasi sel-sel ini dalam sumsum tulang. Selanjutnya *Mesenchymal Stem Cell* akan bergerak ke arah luka dan berdiam di dalam luka. Di dalam pembuluh darah kecil jaringan granulasi yang sedang berkembang, sel ini akan berdiferensiasi menjadi fibroblas dermal, miofibroblas, jaringan limfoid, dan APC (*Antigen Precenting Cell*). Sel progenitor endotelial dari sumsum tulang akan membentuk pembuluh darah baru (vaskulogenesis) (Rosellini 2015).

Mesenchymal Stem Cell yang dicangkok bekerja secara lokal melalui 5 jalur utama, yaitu: (1) meningkatkan angiogenesis, (2) menurunkan inflamasi lokal, (3) sinyal kemotaktik dan anti-apoptotik, (4) normalisasi matriks ekstraseluler, dan (5) stimulasi sel punca yang ada di dekatnya. Sel ini juga mensekresikan VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), FGF (*Fibroblast Growth Factor*), TGF (*Transforming Growth Factor*)-ß, faktor pertumbuhan hepatosit, IL-10 dan

13, serta sitokin dan faktor pertumbuhan yang lain (sinyal parakrin), yang membantu remodelling matriks ekstraseluler dan neovaskulerisasi (Rosellini 2015).

Mesenchymal Stem Cells menyediakan sel-sel anak untuk mengisi kembali jaringan yang hilang diferensiasi atau dengan melepaskan sinyal parakrin untuk merangsang interaksi antara keratinosit dan fibroblas. Keratinosit akan melepaskan IL-1, yang menginduksi fibroblas untuk mensekresikan sitokin dan faktor pertumbuhan yang penting dalam perbaikan kulit seperti keratinosit faktor pertumbuhan, TGF-b1, FGF, IL-6, G-CSF dan HGF. Faktor-faktor ini akan mendukung proses proliferasi keratinosit dan remodeling fibroblas (Ibrahim, 2014).

2.7 Tali Pusat

Tali pusat merupakan suatu penghubung antara janin dan plasenta. Pada usia kehamilan sekitar 7-8 minggu postmenstrual, tali pusat berisi pembuluh darah. Pada tahap awal terdapat empat pembuluh darah yaitu dua pembuluh darah arteri (UA) dan dua pembuluh darah vena (UV). Kemudian pembuluh darah vena mengalami atrofi, sehingga hanya terbentuk tiga pembuluh darah tali pusat yaitu satu vena umbilikal yang mengalirkan darah kaya oksigen dari plasenta ke janin dan dua arteri

umbilikal yang mengalirkan darah kotor dari janin ke plasenta (Bosselmann & Mielke, 2015).

Tali pusat manusia merupakan membran ekstraembrional yang kaya akan sel induk mesenkimal yang didapat dari *Wharton's jelly*. *Wharton's jelly* ini memiliki karakteristik antara lain mudah di dapat, prosedur pengumpulan tidak invasif dan tidak menyakitkan serta tidak kontroversial. Sel induk mesenkimal yang di dapat dari *Wharton's jelly* pada tali pusat telah terbukti memilki proliferasi lebih cepat dan kemampuan ekspansi yang lebih besar dibandingkan sel induk mesenkimal dewasa (Antoninus, *et al*., 2012).

Tali pusat memiliki sifat fleksibel. Selain itu, tali pusat juga memiliki stabilitas mekanik yang dapat melindungi pembuluh darah dari tekanan dan puntiran sehingga dapat mencegah kerusakan dari pembuluh darah tersebut. Faktor yang berperan penting dalam menjaga stabilitas tali pusat adalah lapisan luar yang dibentuk oleh amnion atau disebut dengan *Wharton's jelly*. Diameter tali pusat normalnya sekitar 1-2 cm (Bosselmann & Mielke, 2015).

Matriks ekstraselular *Wharton's jelly* (proteoglikan, asam hialuronik) memiliki sifat hidrofilik dan sangat kental. Selain itu, terdapat serat kolagen disekitar pembuluh darah, sehingga tekanan lokal dan bahaya

terjadinya oklusi pada pembuluh darah, misalnya akibat gerakan janin normal dapat berkurang secara signifikan (Bosselmann & Mielke, 2015).

Tali pusat pada bayi memiliki panjang yang bervariasi. Panjang tali pusat dengan kisaran 35-70 cm saat lahir merupakan panjang yang normal. Ukuran panjang tali pusat berhubungan dengan tingkat komplikasi intrapartum dan dapat dijadikan acuan untuk menilai resiko janin. Tali pusat yang berukuran panjang merupakan hasil dari gaya traksi yang dihasilkan oleh gerakan janin pada trimester pertama yang diasumsikan sebagai stimulus pertumbuhan janin. Sedangkan untuk tali pusat yang berukuran pendek berkaitan dengan kurangnya gerakan janin yang dapat terjadi pada akibat malformasi, miopati, neuropati dan oligohidramnion (Bosselmann & Mielke, 2015).

Sel induk mesenkimal dianggap sebagai pengobatan baru yang muncul dan merupakan terapi gen dalam pengobatan regeneratif. Terapi potensial dari sel induk mesenkimal dapat langsung di eksekusi oleh sel-sel pengganti dari jaringan yang terluka atau oleh efek parakrin dari lingkungan sekitar luka yang secara tidak langsung mendukung proses revaskularisasi, melindungi jaringan dari apoptosis yang disebabkan oleh stress, dan memodulasi respon inflamasi (Kalaszczynska & Ferdyn 2015). Sel induk mesenkimal memiliki 24 kemampuan untuk pembaruan diri dan transformasi sehingga sangat efektif untuk memperbaiki luka pada kulit (Nan, *et al*. 2015).

2.8 Terapi Gen

Pengobatan dengan terapi gen telah berkembang dengan pesat sejak *clinical trial.* Terapi ini pertama kali diperkenalkan pada tahun 1990. Terapi gen adalah suatu teknik untuk mengoreksi gen-gen yang cacat yang bertanggung jawab terhadap suatu penyakit. Selama ini pendekatan terapi gen yang berkembang adalah menambahkan gen-gen normal ke dalam sel yang mengalami ketidaknormalan. Pendekatan lain adalah melenyapkan gen abnormal dengan gen normal dengan melakukan rekombinasi homolog. Pendekatan ketiga adalah mereparasi gen abnormal dengan cara mutasi balik selektif, sehingga akan mengembalikan fungsi normal gen tersebut. Selain pendekatan-pendekatan tersebut, terdapat pendekatan lain untuk terapi gen, yaitu mengendalikan regulasi ekspresi gen abnormal tersebut (Malik, 2005).

Terapi gen dapat didefinisikan sebagai transfer materi genetik baru ke dalam sel-sel tubuh, yang hasilnya harus memberikan keuntungan terapi. Prinsip penting dari terapi gen yaitu mengubah susunan gen yang salah, yang menyebabkan sel-sel tidak berfungsi sebagaimana seharusnya, menjadi berfungsi kembali secara normal. Terapi gen dilakukan dengan cara menyisipkan gen fungsional ke dalam DNA, sehingga akan mengakibatkan meningkatnya produksi dari jumlah protein yang kurang.

Terapi gen di bagi dalam 2 katergori yaitu:

a. Terapi Gen Tipe Germ

Terapi gen tipe germ dilakukan dengan melibatkan proses transfer gen normal ke dalam sel telur yang telah dibuahi. Kemudian sel telur yang telah di koreksi secara genetik diimplantasi kembali ke ibunya. Jika proses transfer gen ini berhasil maka gen normal akan di ekspresikan dan berada pada semua sel tubuh individu yang akan diturunkan kepada generasi berikutnya (Gaffar, 2007; Kurnia, *et al*. 2005).

b. Terapi Gen Tipe Somatik

Terapi gen tipe somatik adalah terapi gen yang dilakukan untuk memperbaiki sel-sel tubuh yang tidak berfungsi normal atau melibatkan koreksi gen pada sel somatik penderita. Umumnya sel somatik ini di ambil dari tubuh penderita, ditransfer dengan gen normal, kemudian dikembalikan ke dalam tubuh penderita. Terapi gen somatik ini tidak diturunkan kepada generasi berikutnya (Gaffar, 2007; Kurnia, *et al*., 2005).

Perkembangan terapi gen yang terkini untuk penyakit-penyakit adalah lebih ke arah gagasan mencegah diekspresikannya gen-gen yang jelek atau abnormal, atau dikenal dengan *gene silencing*. Tujuan *gene silencing* adalah membungkam ekspresi gen tersebut (Malik, 2005).

2.9 Gambaran Umum Hewan Coba

Tikus merupakan hewan menyusui (kelas mamalia) yang mempunyai peranan penting dalam kehidupan manusia, baik bersifat menguntungkan maupun merugikan. Sifat menguntungkan terutama dalam hal penggunaannya sebagai hewan percobaan di laboratorium. Sedangkan sifat merugikan yaitu dalam hal posisinya sebagai hama pada komoditas pertanian, hewan pengganggu, serta penyebar dan penular (*vector*) dari beberapa penyakit pada manusia. Tikus telah diketahui sifat-sifatnya dengan sempurna, mudah dipelihara, dan merupakan hewan yang relatif sehat dan cocok untuk berbagai macam penelitian. Tikus putih (*Rattus norvegicus)* merupakan hewan pengerat dan sering digunakan sebagai hewan percobaan atau digunakan untuk penelitian karena tikus merupakan hewan yang mewakili hewan mamalia sehingga kelengkapan organ, kebutuhan nutrisi, metabolisme biokimianya, sistem reproduksi, pernafasan, peredaran darah dan ekskresi menyerupai manusia (Susanti, 2015).

Tikus Norway putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* diciptakan oleh R.W Dawley pada tahun 1925, yang merupakan hasil persilangan dari tikus Wistar betina dengan tikus jantan yang tidak diketahui klasifikasinya. Tikus Norway putih galur *Sprague dawley* dapat digunakan untuk aplikasi penelitian dalam aspek eksperimen pembedahan, metabolisme dan nutrisi, studi umum, onkologi, neurologi, farmakologi, fisiologi dan penuaan serta toksikologi.

Perbedaaya dengan tikus galur Wistar adalah galur *Sprague dawley* lebih jinak dan mudah ditangani (Sharp & Villano 2012).

Berikut adalah taksonominya (Sharp & Villano 2012):

Kingdom	: Animalia
Filum	: Cordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Familia	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: *Rattus norvegicus*

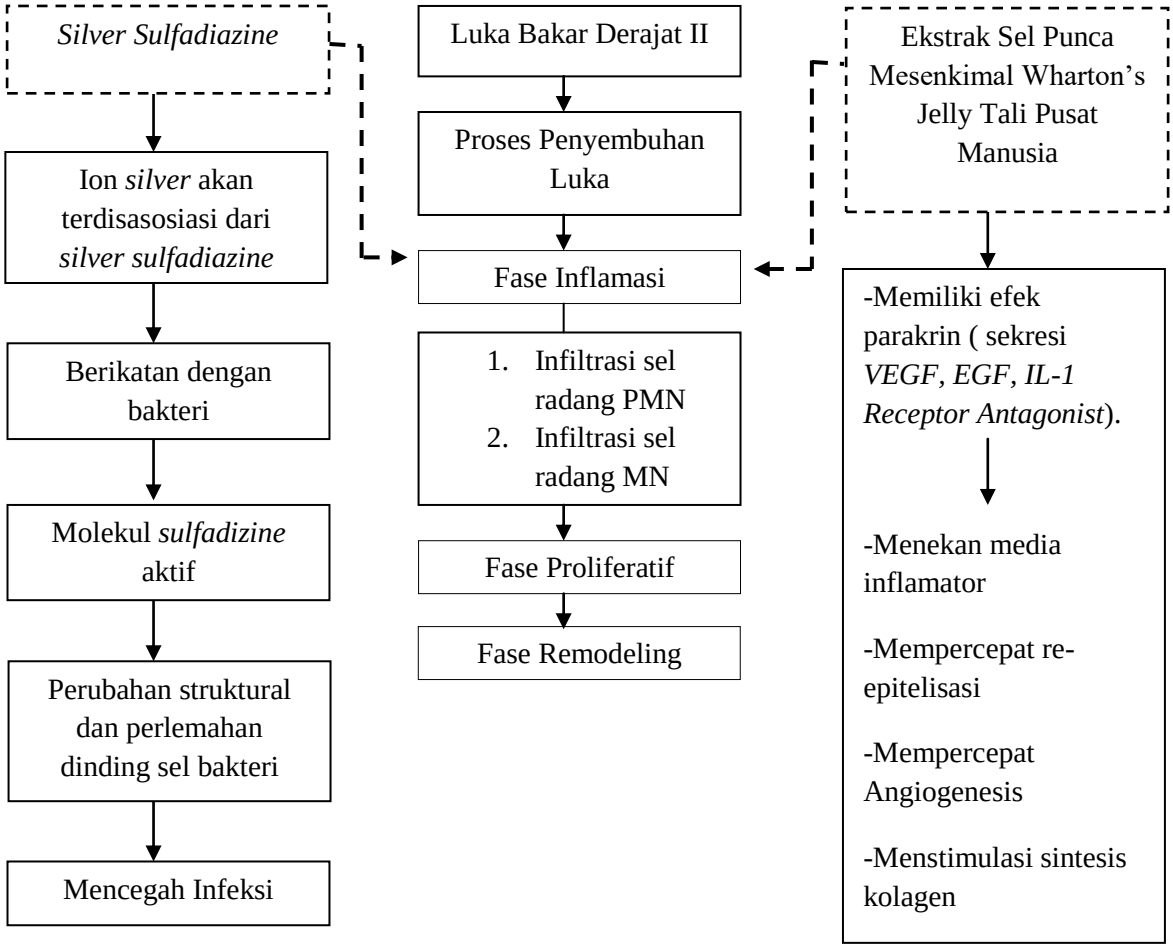
Siklus hidup tikus laboratorium dipengaruhi oleh galur, diet, jenis kelamin, kondisi lingkungan dan variabel lain. Maksimum siklus hidup dari tikus laboratorium adalah 2 sampai 3.5 tahun, sedangkan *Sprague dawley* memiliki siklus hidup yang lebih singkat, yaitu hanya berkisar sampai 2 tahun. Mobilisasi tikus harus diperhatikan, pergerakan tikus dengan jarak jauh sebaiknya dihindari karena member dampak stress yang berkepanjangan sehingga berpengaruh pada fisiologi dan perilaku tikus. Pemeliharaan tikus harus sesuai, mulai dari fasilitas tempat tinggal, makanan dan kebutuhan tikus lainnya untuk menghindari kerusakan fisiologis (Sharp dan Villano, 2012).

Temperatur yang baik untuk lingkungan hidup tikus laboratorium adalah 20-25^{0}C dengan tingkat kebisingan kurang dari 85 dB. Kebutuhan pangan tikus laboratorium rata-rata adalah 12-30 gram perhari atau 10% dari bobot tubuhnya, jika pakan tersebut berupa pakan kering. Hal ini dapat pula ditingkatkan sampai 15% dari bobot tubuhnya jika pakan yang dikonsumsi berupa pakan basah dan membutuhkan cairan sekitar 140 ml/kgBB perhari atau 15-30 ml air (Susanti, 2015).

Gambar 8. Tikus Putih Jantan (Rattus norvegicus) galur Sprague dawley (Oriza, 2015)

2.10 Kerangka Penelitian

2.10.1 Kerangka Teroi

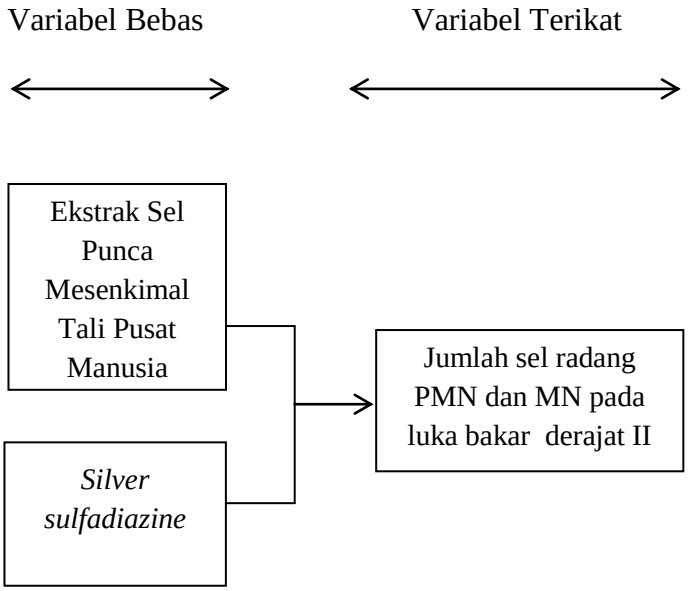


Keterangan:

- - → = Mempercepat Proses

Gambar 9. Kerangka Teori (Rowan et al. 2015; Sevgi et al. 2014; Gibran et al. 2013)

2.10.2 Kerangka Konsep



2.11 Hipotesis

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

Ho =

1. Tidak terdapat perbedaan jumlah sel radang PMN pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan *silver sulfadiazine* pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*
2. Tidak terdapat perbedaan jumlah sel radang MN pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan *silver sulfadiazine* pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*

Ha =

1. Terdapat perbedaan jumlah sel radang PMN pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan *silver sulfadiazine* pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*
2. Terdapat perbedaan jumlah sel radang MN pada luka bakar derajat II antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan *silver sulfadiazine* pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*

BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan jumlah sel radang PMN dan MN pada penyembuhan luka bakar secara mikroskopis antara pemberian topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan *silver sulfadiazine* pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* dengan menggunakan metode *post test only controlled group design*.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanan pada bulan Oktober-Desember 2017. Pembuatan sediaan topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dilakukan di Laboratorium Biologi Molekular Fakultas Kedokteran Universitas Lampung 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.

3.3 Subjek Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*. Sampel yang digunakan adalah tikus yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

3.3.1.1 Kriteria Inklusi

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

3.3.1.2 Kriteria Eksklusi

a. Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang memiliki kelainan pada kulit.
b. Terdapat penurunan berat badan secara drastis lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium.
c. Mati selama masa perlakuan.

3.3.1.3 Kriteria *Drop Out*

a. Sakit (penampakan rambut kusam, rontok, atau botak dan aktivitas kurang atau tidak aktif, keluarnya eksudat tidak normal dari mata, mulut, anus, atau genital)

b. Mati selama masa perlakuan

3.3.2 Sampel Penelitian

Pada penelitian ini, sampel dibagi ke dalam sembilan kelompok perlakuan. Pemilihan sampel digunakan dengan cara *simple random sampling*. Penentuan besar sampel dengan menggunakan rumus frederer:

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

dimana: t = banyaknya kelompok perlakuan

n = jumlah sampel per kelompok perlakuan

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

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

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

$$8n-8 \geq 15$$

$$n \geq 2{,}875$$

n = dibulatkan menjadi 3

tiap kelompok ditambah 10% yang digunakan sebagai cadangan (10% x 3 = 0,3 ≈ 1) sehingga n = 4

Berdasarkan rumus tersebut, jumlah maksimal sampel yang dibutuhkan untuk masing-masing kelompok perlakuan adalah 4 ekor tikus dan jumlah minimal sampel untuk 9 kelompok perlakuan adalah 36 ekor tikus. Jumlah minimal sampel ditambahkan 10% untuk

mengantisipasi *drop out*. Pembagian sampel ke dalam sembilan kelompok perlakuan dilakukan dengan pemilihan secara acak.

Adapun perlakuan yang diberikan pada masing-masing tikus:

No	Kelompok	Perlakuan
1	Kelompok1 (K14)	Kelompok tikus yang hanya diberi makan tanpa adanya perlakuan apapun diterminasi pada hari ke-4
2	Kelompok2 (P14)	Kelompok tikus yang diberikan sel punca mesenkimal diterminasi pada hari ke-4
3	Kelompok3 (P24)	Kelompok tikus yang diberi krim *Silver sulfadiazine* diterminasi pada hari ke-4
4	Kelompok4 (K114)	Kelompok tikus yang hanya diberi makan tanpa perlakuan apapun diterminasi pada hari ke-14
5	Kelompok5 (P114)	Kelompok tikus yang diberikan sel punca mesenkimal diterminasi pada hari ke-14
6	Kelompok6 (P214)	Kelompok tikus yang diberikan *Silver sulfadiazine* diterminasi pada hari ke-14
7	Kelompok 7 (K128)	Kelompok tikus yang hanya diberi makan tanpa adanya perlakuan apapun diterminasi pada hari ke-28
8	Kelompok 8 (P128)	Kelompok tikus yang diberikan sel punca mesenkimal diterminasi pasa hari ke-28
9	Kelompok9 (P228)	Kelompok tikus yang diberikan *Silver sulfadiazine* diterminasi pada hari ke-28

Keterangan:

K1 : Kontrol (-)

P1 : Sel Punca

P2 : Silver Sulvadiazine

4 : Hari ke-4

14 : Hari ke-14

28 : Hari ke-28

3.3.2.1 Tekning Sampling

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

3.4 Identifikasi Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas atau variabel independen dalam penelitian ini adalah sediaan topikal ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan *silver sulfadiazine*.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat atau variabel dependen dalam penelitian ini adalah jumlah sel PMN dan MN pada luka bakar derajat II.

3.5 Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	**Variabel Bebas**					
	Ekstrak Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat	Ekstrak DNA *Wharton's Jelly* Mesenchymal Stem Cell yang diisolasi dari tali pusat manusia yang dibuat di Laboratorium FK Unila. Dioleskan topikal 1 kali sehari	Lembar Observasi	Hasil pengamatan dicatat dalam lembar observasi	- Ya - Tidak	Nominal
	Silver sulfadizine	*Silver sulvadiazine* diambil dari sediaan krim burnazin mengandung *silver sulfadiazine* 10 mg. Pemakaian dengan cara dioleskan 1 kali sehari.	Lembar Observasi	Hasil pengamatan dicatat dalam lembar observasi	- Ya - Tidak	Nominal

2.	**Variabel Terikat**					
	Jumlah sel radang PMN dan MN	Gambaran mikroskopis diambil dari sediaan histopatologi dengan menilai parameter penilaian yaitu jumlah sel radang PMN dan MN pada tiap sampel.	Lembar observasi	Hasi pengamatan dicatat dalam lembar observasi	Mikroskopis masing-masing sel radang pada luka bakar: 3: terdapat 1-5 sel radang per lapang pandang 2: terdapat 6-10 sel radang per lapang pandang 1: terdapat 11-15 sel radang per lapang pandang	Numerik

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan adalah kandang hewan coba, timbangan digital, pisau cukur, pisau skalpel steril, spuit 1 cc dan jarum, gelas beker, mikropipet beserta tipnya, inkubator, *Quick-DNA Universal Kit* (tabung *Zymo-Spin IIC-XL*), tabung mikrosentrifugasi, kassa steril, b*iological safety cabinet*, pisau cukur dan gagangnya, gunting untuk mencukur rambut/bulu tikus, penggaris, sarung tangan steril, bengkok, kom, solder listrik yang ujungnya dimodifikasi dengan logam aluminium berdiameter 2cm,

kipas angin, gunting plester, pinset anatomis, spuit 1cc dan jarum, kassa steril, kandang serta botol minum tikus, mikroskop, *object glass*, *cover glass*, *deck glass*, *tissue cassette*,*rotary microtome*, oven, *water bath*, *platening table*, *autotechnicom processor*, *staining jar*, *staining* rak, kertas saring, histoplast, dan parafin dispenser.

3.6.2 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan yaitu pakan dan minum tikus, alkohol 70%, NaCl fisiologis, tali pusat manusia, larutan buffer fosfat, *Quick-DNA Universal Kit* (*Solid Tissue Buffer*, Proteinase K, *Genomic Binding Buffer*, *DNA-Pre Wash Buffer*, *g-DNA Wash Buffer*, dan *DNA Elution Buffer*), akuades, *silver sulfadiazine*, plester, kassa steril, aquadest, alkohol, ketamine-xylazine, tikus putih jantan (*Rattus norwegicus)* dewasa galur *Sprague dawley*, pakan dan minum tikus, larutan formalin 10% untuk fiksasi preparat histopatologi, alkohol, etanol, xylol, pewarna hematoksilin dan eosin, entelan dan kamera digital untuk dokumentasi.

3.7 Cara Kerja

3.7.1 Tahap Persiapan

3.7.1.1 Aklimatisasi Hewan Uji

Aklimatisasi adalah penyesuaian (diri) dengan lingkungan, iklim, kondisi atau suasana baru. Sebelum dilakukan perlakuan kepada semua tikus laboratorium, tikus putih (*Rattus norvegicus)* galur *Sprague dawley* dilakukan adaptasi di *Pet House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan diberi pakan sesuai standar selama 7 hari. Tikus diadaptasikan dengan makanan, minuman, dan lingkungan barunya.

3.7.1.2 Pembuatan Ekstrak Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat

Penelitian dilakukan setelah mendapat persetujuan *Ethical Clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Tali pusat diperoleh dari donor sukarela yang telah menandatangani lembar *informed consent*. Donor sukarela merupakan ibu yang tidak memiliki riwayat hepatitis B, hepatitis C, HIV, infeksi *Cytomegalo virus*, infeksi *Treponema pallidum*, serta riwayat infeksi lain yang ditularkan melalui darah, sawar plasenta, dan genital (Chen, *et al*., 2015). Lokasi pengambilan tali pusat dilakukan di Rumah Sakit Abdul Moeloek dengan menggunakan *ethical clearance* dan surat pengantar dari Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Setelah bayi lahir, tali pusat dipotong menggunakan pisau atau gunting steril dan tangan yang bersih dengan panjang sekitar 3-5 cm dan segera disimpan dalam wadah berisi larutan salin normal 0.9%. Setelah itu,tali pusat disimpan pada suhu 4°C sampai proses pengolahan dilakukan. Tali pusat ditangani secara aseptik dan di proses dalam *Biological safety cabinet*. Permukaan tali pusat dibilas degan larutan *buffer* garam fosfat untuk membersihkannya dari darah yang menempel di permukaan (Puranik et al. 2012). Saat dilakukan pemotongan, tali pusat harus dijepit untuk mencegah perdarahan pada pembuluh darah (Purnamasari, 2016).

Ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dibuat menggunakan Quick-DNA Universal Kit, produksi *Zymo Research*. Sampel merupakan jaringan tali pusat manusia yang sudah dipotong sangat kecil dan ditimbang seberat 25 mg. Sampel dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifugasi lalu tambahkan 95 μL air, 95 μL *Solid Tissue Buffer*, dan 10 μL Proteinase K kemudian putar menggunakan *vortex* selama 10-15 detik. Setelah itu, tabung di inkubasi pada suhu 55^{0}C selama 1-3 jam. Setelah inkubasi selesai, lakukan sentrifugasi tabung dengan kecepatan 12.000 xg selama 1 menit kemudian pisahkan supernatan dan masukkan ke dalam tabung mikrosentrifugasi baru. Tambahkan 2 kali volume *Genomic Binding Buffer* ke

dalam supernatan tersebut (contoh: tambahkan 400 µL *Genomic Binding Buffer* untuk 200 µL supernatan), *vortex* selama 10-15 detik. Pindahkan campuran tersebut ke tabung Zymo-Spin IIC-XL dalam tabung pengumpul lalu lakukan sentrifugasi dengan kecepatan 12.000 xg selama 1 menit, kemudian buang supernatan. Setelah itu, tambahkan 400 µL *DNA Pre-Wash Buffer* lalu sentrifugasi dengan kecepatan dan waktu yang sama dengan proses sebelumnya, kemudian kosongkan tabung pengumpul. Tambahkan 700 µL *g-DNA Wash Buffer* lalu sentrifugasi kembali, kosongkan tabung pengumpul. Setelah itu, tambahkan kembali 200 µL *g-DNA Wash Buffer* kemudian di sentrifugasi, 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, kemudian di sentrifugasi dengan kecepatan 12.000 xg selama 1 menit. Terbentuklah 50 µL ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia. Simpan pada suhu -20 0C sampai ekstrak akan digunakan (Zymo, 2017).

3.7.1.3 Pembuatan Luka Bakar Derajat II

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°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.

3.7.1.4 Pemberian Terapi

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 ekstrak 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 (K1) 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 dieutanasia secara inhalasi dengan kloroform.

3.7.1.5 Prosedur Operasional Pembuatan Slide

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°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.

3.7.1.6 Prosedur Penilaian Tingkat Kesembuhan Luka Bakar

Prosedur penilaian secara mikroskopis

a. Mengambil sampel biopsi yang sudah jadi dalam bentuk slide
b. Menilai perbedaan jumlah sel radang PMN dan tingkat pembentukan kolagen pada perbesaran 40x lalu dilanjutkan dengan perbesaran 100x hingga 400x.

3.7.1.7 Cara Penilaian Tingkat Kesembuhan Luka Bakar Derajat II

Penilaian Secara Mikroskopis

Tingkat kesembuhan luka bakar secara mikroskopis diambil dari sediaan histopatologi jumlah sel radang PMN dan MN yang diinterpretasikan dalam total skor rata-rata (Manjas &Henky, 2010). Dilakukan penghitungan skor dengan cara menghitung total skor parameter dari masing-masing sampel sehingga didapatkan kisaran skor sebesar 1-3 pada tiap sampel. Setelah itu, dihitung rata-rata skor per kelompok perlakuan.

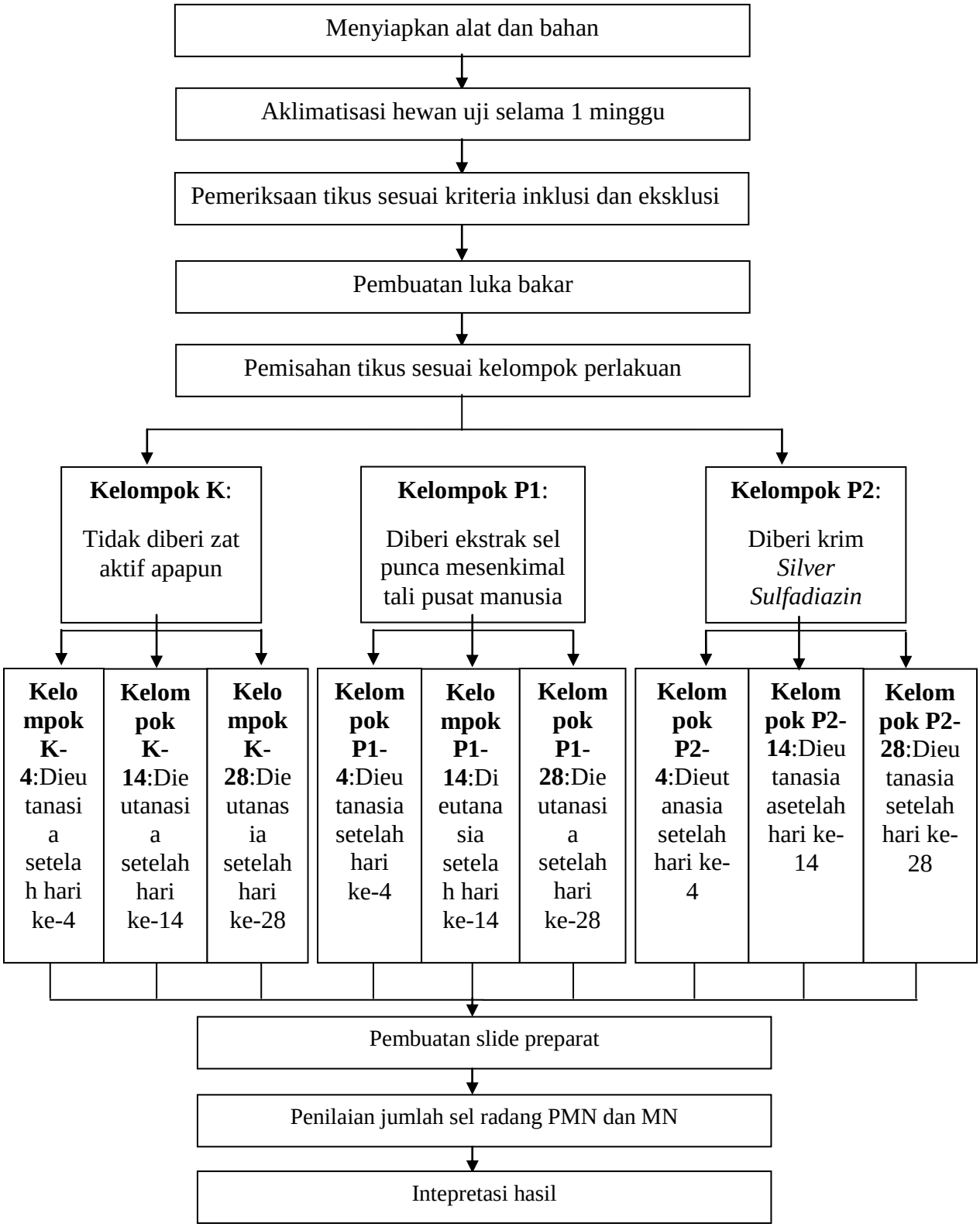
Tabel 2. Penilaian Jumlah Sel Radang PMN per Lapangan Pandang (Alawiyah, 2013):

No.	Jumlah Sel Radang per Lapangan Pandang	Skor
1.	Terdapat 1-5 sel PMN per lapangan pandang	3
2.	Terdapat 6-10 sel PMN per lapangan pandang	2
3.	Terdapat 11-15 sel PMN per lapangan pandang	1

Tabel 3. Penilaian Jumlah Sel Radang MN per Lapangan Pandang (Alawiyah, 2013):

No.	Jumlah Sel Radang per Lapangan Pandang	Skor
1.	Terdapat 1-5 sel MN per lapangan pandang	3
2.	Terdapat 6-10 sel MN per lapangan pandang	2
3.	Terdapat 11-15 sel MN per lapangan pandang	1

3.8 Alur Penelitian



Gambar 7. 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 di analisis.

3.10.2 Analisis Data

Sebelum menentukan uji hipotesis yang tepat diperlukan langkah-langkah yang harus dipertimbangkan. Langkah-langkah dalam menentukan uji hipotesis tersebut adalah:

a. Menentukan variabel yang dihubungkan

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah data dengan skala pengukuran kategorik. Sedangkan skala pengukuran variabel terikat pada penelitian ini adalah skala pengukuran numerik.

b. Menentukan jenis hipotesis

Jenis hipotesis dibagi menjadi dua, yaitu hipotesis komparatif dan korelatif. Untuk menunjukkan bahwa metode yang dipakai dalam mencari perbedaan antarvariabel adalah metode komparatif, maka digunakan kata perbedaan. Sedangkan untuk menunjukkan bahwa metode yang digunakan untuk mencari hubungan antarvariabel adalah metode korelatif, maka digunakan kata korelasi. Pada penelitian ini terdapat kata “perbedaan”, sehingga jenis hipotesis yang digunakan adalah hipotesis komparatif.

c. Menentukan berpasangan/tidak berpasangan

Dua atau lebih kelompok data dikatakan berpasangan apabila data tersebut dari individu yang sama baik karena pengukuran berulang, proses matching, atau karena desain crossover. Sedangkan dikatakan data tidak berpasangan apabila data berasal dari subjek yang berbeda tanpa prosedur matching. Oleh karena itu, penelitian ini merupakan penelitian lebih dari dua kelompok tidak berpasangan.

d. Menentukan jumlah kelompok atau menentukan jenis tabel

Tabel BxK digunakan untuk hipotesis komparatif komparatif kategorik tidak berpasangan sedangakan tabel BxK digunakan untuk hipotesis kategorik berpasangan. B adalah singkatan dari baris, K adalah kolom.Pada baris umumnya diletakkan variabel bebas, sedangkan pada kolom diletakkan variabel terikat.

Berdasarkan pemaparan diatas, hasil pengamatan tentang perbedaan jumlah sel radang PMN dan MN pada luka bakar derajat II antara pemberian ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan *silver sulfadiazine* pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* dianalisis secara univariat dan analisis bivariat untuk uji hipotesis komparatif skala pengukuran numerik dan kategorik tidak berpasangan.

Data penelitian diproses dengan aplikasi pengolahan data, dengan tingkat signifikansi p=0,05. Hasil penelitian pertama dideskripsikan

secara univariat, kemudian data hasil penelitian dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro Wilk* untuk mengetahui data berdistribusi normal atau tidak normal, dan uji homogenitas data menggunakan uji *Levene* untuk mengetahui data homogen atau tidak homogen. Adapun uji *Shapiro Wilk* dipilih karena jumlah sampel <50. Hasil uji normalitas dan homogenitas ini menentukan analisis berikutnya, yaitu analisis parametrik bila data berdistribusi normal serta homogen dan non parametrik bila data tidak berdistribusi normal serta tidak homogen. Jika data berdistribusi normal serta homogen, maka digunakan uji statistik *One Way ANNOVA* dengan catatan sebagai berikut:

a. Bila sebaran normal dan varian sama, gunakan uji *One Way ANOVA* dengan *post hoc* Bonferonni 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 berganung pada sebaran dan varian hasil transformasi.
d. Bila sebaran tidak normal, gunakan uji Kruskal-Wallis dengan *post hoc* Mann-Whitney

3.11 Kajian Etik

Penelitian ini akan diajukan kepada komisi etik penelitian kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan persetujuan etik nomor 155/UN26.8/DL/2018.

BAB V
SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan:

1. Luka bakar derajat II pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* dengan pemberian sel punca mesenkimal tali pusat manusia memiliki rerata jumlah sel radang Polimorfonuklear (PMN) yang lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok K1 dan P2 pada hari ke-4 dan ke-14 yaitu 5,67 dan 3,33.

2. Luka bakar derajat II pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* dengan pemberian sel punca mesenkimal tali pusat manusia memiliki rerata jumlah sel radang Mononuklear (MN) yang lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok K1 dan P2 pada hari ke-14 dan ke-28 yaitu 3,33 dan 5,67.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka saran yang dapat direkomendasikan adalah :

1. Bagi peneliti lain, dapat dijadikan dasar acuan untuk melakukan penelitian selanjutnya terkait dengan manfaat sel punca mesenkimal terhadap penyembuhan luka.

DAFTAR PUSTAKA

Abdurrahmat, A. S. 2014. Luka, Peradangan dan Pemulihan Asep. Lnovasi Penelitian, Pendidikan dan Pembelajaran Sains, 9(1), 4–11.

Amin H Z. 2007. Terapi Stem Cell untuk Infark Miokard Akut, Infark Miokat Akut: 18.

Alawiyah, Elis Sri. 2013. Perbandingan Tingkat Kesembuhan Luka Bakar Derajat II antara yang diberi Madu Topikal Nektar Kopi dengan Moist Exposed Burn Ointment (Mebo) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Dewasa Jantan Galur *Sprague dawley*. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung: Bandarlampung.

Antoninus AA, *et al*. 2012. Wharton ' S Jelly – Derived Mesenchymal Stem Cells : Isolation and Haracterization. CDK.39(8):588–91.

Atik, Nur, Iwan A.R., dan Januarsih. 2009. Perbedaan Efek Pemberian Topikal Gel Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) Dengan Solusio Povidone Iodine terhadap Penyembuhan Luka Sayat pada Kulit Mencit (*Mus musculus*). Majalah Kedokteran Bandung, 41(2).

Awan, S.A., Nurpudji Astuti1, Agussalim Bukhari, Meta Mahendradatta, Abu Bakar Tawali. 2014. **M**anfaat Suplementasi Ekstrak Ikan Gabus terhadap Kadar Albumin, Mda pada Luka Bakar Derajat II. Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar. 4(4):386.

Bosselmann S., & Mielke G. 2015. Sonographic Assessment of The Umbilical Cord.75(8):818.

Chen G, *et al*. 2015. Comparison of Biological Characteristics of Mesenchymal Stem Cells Derived From Maternal-Origin Placenta and Wharton's Jelly. 6(1):228.

Darwin, Chrysela Olivia. 2016. Gambaran Sel Darah Putih pada Respon Inflamasi Pasca Pemasangan Implan yang Dilapisi *Platelet Rich Plasma* dan tanpa dilapisi *Platelet Rich Plasma.* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin, Makassar.

Djauhari NS, T. 2010. Sel Punca. Jurnal Saintika Medika, 16(2):92–4.

Djuwantono T., *et al*. 2010. Uji Fungsional dan Karakteristik Sel Punca Hematopoetik Hasil Isolasi Dari Darah Tali Pusat Manusia Menggunakan Metode Modifikasi. Unpad- Aster Functional Test and Characteristic of Hematopoietic Stem Cells Derived from Human Umbilical Cord Blood Using Unp, 43(4) : 172.

Dyaningsih, D. M. 2007. Pengaruh Pemaparan Entamoeba Ginggivalis terhadap jumlah Polimorfonuklear Neutrofil pada Tikus Wistar Jantan dengan Radang Ginggiva. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Jawa Timur.

Gaffar, S. 2007. Buku Ajar Bioteknologi Molekul. Universitas Padjajaran, Bandung.

Galiano, R. D. *et al.* 2004. Quantitative and Reproducible Murine Model of Excisional Wound Healing. Wound Repair and Regeneration, 12(4):485–492.

Gibran, N. S, *et al*. 2013. American Buen Asso iation Consensus Statements The ABA's Pursuit of Excellence: A Long and Winding Road...to Your Door. 361-385

Goodman dan Gilman. 2007. Dasar Farmakologi Terapi. Jakarta. EGC.

Grace, P.A., R.B. Neil. 2005. *At a Glance:* Ilmu Bedah. Edisi 3. Jakarta. Erlangga.

Hardiany NS. 2016. Metode Transfer Asam Nukleat sebagai Dasar Terapi Gen. Departemen Biokimia & Biologi Molekuler FK Universitas Indonesia. 4(3):204.

Hidayat, Taufiq S. N. 2013. Peran Topikal Ekstrak Gel Aloe Vera pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat dalam pada Tikus. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya. hal. 33.

Hosseini S. V, *et al.* 2007. Comparison between Alpha and *Silver Sulfadiazine* Ointments In Treatment of Pseudomonas Infections In 3rd Degree Burns. International Journal of Surgery. 5(1):23–26.

Ibrahim, ZA, *et al*. 2014. Autologus Bone Marrow Stem Cells In Atrophic Acne Scars: A pilot study. *Journal of Dermatological Tteatment*, 26(3), 1–5.

Izzati, Ulfa Zara. 2015. Efektivitas Penyembuhan Luka Bakar Salepekstrak Etanol Daun Senggani (*Melastoma Malabathricum* L.) pada Tikus (*Rattus Norvegicus*) Jantan Galur Wistar. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Pontianak.

Kalangi SJR. 2013. Histofisiologi Kulit. Bagaian Anatomi-Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado.5:12–19.

Kalaszczynska, I., & Ferdyn, K. 2015. Wharton's Jelly Derived Mesenchymal Stem Cells: Future of Regenerative Medicine Recent Findings and Clinical Significance. BioMed Research International, hal 11.

Kartika, R.W., 2015. Perawatan Luka Kronis dengan Modern Dressing. Perawatan Luka Kronis dengan Modern Dressing, CDK-230, 42(7), hal.546–550.

Kurnia, Y., Taniwidjaja, S., Sakasamita, S., & Antoni, M. 2005. Terapi gen. Meditek. 13(35):1-5.

Koller, J. 2004. Topical Treatment of Partial Thickness Burns by *Silver Sulfadiazine* Plus Hyaluronic Acid Compared to *Silver sulfadiazine* Alone: A Double-Blind, Clinical Study. *Drugs Exp Clin Res.*30(5-6):183-90.

Lindblad WJ. 2008 Considerations For Selecting The Correct Animal Model For Dermal wound-healing studies. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition, 19(8):1087–1096.

Malik A. 2005. RNA Therapeutic , Pendekatan Baru dalam Terapi Gen. Majalah Ilmu Kefarmasian.2(2):51–2.

Mescher A. 2010. Junqueira's Basic Histology Text & Atlas. New York: McGraw Hill Medical.

Mescher, A. L. 2011. Histologi Dasar Junqueira Edisi 12(12th ed.). Jakarta.

Mescher, A.L., 2012. Histologi Dasar Junqueira: Teks & Atlas ed 12. H. Hartanto, ed., Jakarta: EGC.

Moore, KL. 2002. Anatomi Klinis Dasar. Jakarta: Hipokrates.

Nan WP. 2015. Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Combined With A Collagen-Fibrin Double-Layered Membrane Accelerates Wound Healing, 27(5).

Oriza, Tresiaty. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (*Ten.*) *Steenis*) terhadap Gambaran Makroskopik Penyembuhan Luka Sayat pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus)*. Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin: Makassar.

Pradipta, I Gede Ngurah Dwi Oka. 2010. Pengaruh Pemberian Prpolis secara Topikal terhadap Migrasi Sel Polimorfonuklea pada luka Sayat Tikus. Fakultas Kedokteran Universitas Jember: Jawa Timur.

Puranik S B, Nagesh A, 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.

Purnama, H., Sriwidodo, Soraya Ratnawulan. 2017. Review Sistematik: Proses Penyembuhan dan Perawatan Luka. Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Bandung, 15(2), 251.

Purnamasari L. 2016. Perawatan Topikal Tali Pusat untuk Mencegah Infeksi pada Bayi Baru Lahir. 43(5):395–398.

Purwaningsih, Lucia Anik. 2015. Respon Adaptasi Fisiologis dan Psikologis Pasien Luka Bakar yang diberikan Kombinasi Alternative Moisture Balance Dressing dan Seft Terapi di RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta: Yogyakarta.

Rahayuningsih, Tutik. 2012. Penatalaksanaan Luka Bakar (*Combustio*). Poltekes Bhakti Mulia: Sukoharjo.

Rahmawati D. 2012. Hubungan Perawatan Kulit Wajah dengan Timbulnya Akne Vulgaris, hal 19–28.

Robbins, S. L. dan Kumar, V. 1995. Basic Pathology Part 1. Staf Pengajar Laboratorium Patologi Anatomil FK Unair. Buku Ajar Patologi I. Jakarta : EGC.S

Rosellini, I. 2015. Peranan Sel Punca dalam Penanganan Luka Kronis.42(7):539.

Rowan, M. P. et al. 2-17. Partial-Thickness Burn Wound Healing by Topical Treatment. hal.9

Sevgi, M et al. 2014. Topical Antimicrobial for Burn Infection - AnUpdate., 8(3), 161-197.

Sharp, P. Villano, J. 2012. The Laboratory Rat 2nd ed.CRC press.

Shin TH, Kim HS, Choi S, Kang KS. 2017. Mesenchymal Stem Cell Therapy for Inflammatory Skin Disease: Clinical Potential and Mode of Action. Int J Mol Sci. 18(2):244.

Sjamsuhidajat, R., W.D. Jong. 2004. Buku Ajar Ilmu Bedah Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. EGC.

Smeltzer dan Bare. 2002. Buku Ajar Keperawatan Medikal Bedah Brunner dan Suddart. Jakarta: EGC.

Suryadi, Iwan A., AAGN Asmarajaya dan Sri Maliawan. 2010. Proses penyembuhan dan Penanganan Luka. Fakultas Kedokteran Universitas Udayana: Denpasar.

Susanti, Elvi. 2015. Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus Norvegicus)* yang diberi Insektisida Golongan Piretroid (Sipermetrin). Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin: Makassar.

Syuhar, MN. 2013. Perbandingan Tingkat Kesembuhan Luka Bakar Derajat II antara Pemberian Madu dengan Tumbuhan Daun Binahong pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawely*. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung: Bandarlampung.

Tambayong, J., 2000. Patofisiologi Untuk Keperawatan M. Ester, ed., Jakarta: EGC. hal. 131-139.

Velaquez, OC. 2007. Angiogenesis and Vasculogenesis: Including the Growth of New Blood Vesels and Wound Healing by Stimulation of Bone Marrow-derived Pogenitor Cell Mobilitation and Homin. J VascSung. 45:39-47.

Venita & Budiningsih, Y., 2014. Forensik pada Kasus Perlukaan (Traumatologi). In C. Tanto *et al*., eds. Kapita Selekta Kedokteran Jilid II. Jakarta: Media Aesculapius, hal. 888–891.

Widagdo, Tri Djoko. 2004. Perbandingan Pemakaian Aloe Vera 30%, 40% dan Silver sulvadiazine 1% Topikal pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat II. Fakultas kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.

Wiyono, Yulinda Risma R. D. 2016. Studi Penggunaan Terapi Cairan pada Pasien Luka Bakar. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga: Surabaya.

Zymo R. 2017. Quick DNA Miniprep Pluskit. Tersedia dari http://www.zymoresearch.com/dna/genomic-dna/cell-soft-tissue-

dna/quickdna-miniprep-plus-kit [Diakses pada tanggal 9 September 2017].