

**PERBEDAAN ANTARA EFEK PEMBERIAN GEL EKSTRAK BAWANG
PUTIH SEGAR DENGAN GEL EKSTRAK AGED BLACK GARLIC
TERHADAP PROSES PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DERAJAT II
FASE INFLAMASI PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN
GALUR *Wistar***

(Skripsi)

Oleh:

QOTRUNNADA SALSABILA



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

ABSTRACT

THE DIFFERENCE BETWEEN THE EFFECTS OF FRESH GARLIC EXTRACT GEL AND AGED BLACK GARLIC EXTRACT GEL APPLICATION ON 2ND DEGREE BURN WOUND'S INFLAMMATION PHASE HEALING PROCESS IN *Wistar* WHITE MALE RATS (*Rattus norvegicus*)

By

QOTRUNNADA SALSABILA

Background: Burn wound is a damage or loss of tissues caused by contact with heat source and can be classified into three (1st, 2nd (A/B), and 3rd degree). To prevent the occurrence of chronic inflammation, it is necessary to apply anti-inflammatory agents to acute burns, such as the application of garlic. One of the alternative ways to get rid of garlic's shortcomings is the usage of aged black garlic. This study is aimed to compare their anti-inflammatory activities.

Methods: This study was a true experimental study with post-test only control group design using 30 rats grouped into three: K: NaCl 0,9%, P1: 20% fresh garlic extract gel, and P2: 20% aged black garlic extract gel. Burn wounds were observed for 7 days, assessed with Bates-Jensen Wound Assessment Tool, and the datas were analyzed using One-Way ANOVA.

Results: One-Way ANOVA showed result of $p=0,000$ which means the treatment groups showed significant differences in Bates Jensen Wound Assessment Tool mean scores. Tukey HSD study showed $p=0,000$ between treatment groups (P1 and P2).

Conclusion: There is a significant difference between fresh garlic and aged black garlic extract gel application on 2nd degree burn wound's inflammation phase in *Wistar* white male rats (*Rattus norvegicus*).

Keywords: burn wound; garlic; aged black garlic; inflammation.

ABSTRAK

PERBEDAAN ANTARA EFEK PEMBERIAN GEL EKSTRAK BAWANG PUTIH SEGAR DENGAN GEL EKSTRAK AGED BLACK GARLIC TERHADAP PROSES PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DERAJAT II FASE INFLAMASI PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR Wistar

Oleh

QOTRUNNADA SALSABILA

Pendahuluan: Luka bakar adalah rusak atau hilangnya jaringan yang disebabkan kontak dengan sumber panas dan dapat dibagi menjadi tiga derajat (I, II (A/B), dan III). Untuk mencegah terjadinya inflamasi kronik, perlu diaplikasikan agen antiinflamasi pada luka bakar akut, salah satunya adalah penggunaan bawang putih. Salah satu cara alternatif yang dilakukan untuk menghilangkan kelemahan bawang putih adalah penggunaan *aged black garlic*. Studi ini bertujuan untuk membandingkan aktivitas antiinflamasinya.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan *post-test only control group design* menggunakan 30 tikus, dibagi menjadi 3 kelompok: K: NaCl 0,9%, P1: gel ekstrak bawang putih segar 20%, dan P2: gel ekstrak *aged black garlic* 20%. Luka bakar diamati selama 7 hari, dinilai dengan instrumen penilaian luka Bates-Jensen, dan datanya dianalisis dengan menggunakan *One-Way ANOVA*.

Hasil: Uji ANOVA memberi hasil $p=0,000$ yang berarti seluruh kelompok perlakuan menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada rerata skor instrumen penilaian luka Bates-Jensen. Uji *Tukey HSD* menunjukkan $p=0,000$ antara kedua kelompok perlakuan (P1 dan P2).

Kesimpulan: Terdapat perbedaan yang bermakna antara efek pemberian gel ekstrak bawang putih segar dengan gel ekstrak *aged black garlic* terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar.

Kata Kunci: luka bakar; bawang putih; bawang hitam; inflamasi.

**PERBEDAAN ANTARA EFEK PEMBERIAN GEL EKSTRAK BAWANG
PUTIH SEGAR DENGAN GEL EKSTRAK AGED BLACK GARLIC
TERHADAP PROSES PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DERAJAT II
FASE INFLAMASI PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN
GALUR *Wistar***

**Oleh
QOTRUNNADA SALSABILA**

Skripsi

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

Pada

**Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

Judul Skripsi

**: PERBEDAAN ANTARA EFEK PEMBERIAN
GEL EKSTRAK BAWANG PUTIH SEGAR
DENGAN GEL EKSTRAK AGED BLACK
GARLIC TERHADAP PROSES
PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DERAJAT II
FASE INFLAMASI PADA TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR Wistar**

Nama Mahasiswa

: Qotrunnada Salsabila

Nomor Pokok Mahasiswa

: 1718011128

Program Studi

: Pendidikan Dokter

Fakultas

: Kedokteran



1. Komisi Pembimbing

Dr. Hendri Busman, M. Biomed
NIP. 19590101 198703 1 001

dr. Helmi Ismunandar, S.Ked., Sp.OT
NIP. 19821211 200912 1 004

2. Dekan Fakultas Kedokteran

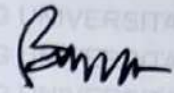


Prof. Dr. Dyah Wulan SRW, SKM., M.Kes
NIP. 19720628 199702 2 001

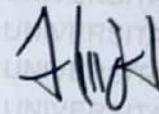
MENGESAHKAN

1. Tim penguji

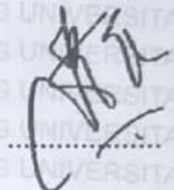
Ketua : **Dr. Hendri Busman, M.Biomed**



Sekretaris : **dr. Helmi Ismunandar, S.Ked., Sp.OT**



Penguji
bukan pembimbing : **dr. Rizki Hanriko, S.Ked., Sp.PA**



2. Dekan Fakultas Kedokteran




Prof. Dr. Dyah Wulan SRW, SKM., M.Kes
NIP. 19720628 199702 2 001

Tanggal lulus ujian skripsi : 8 Juli 2021

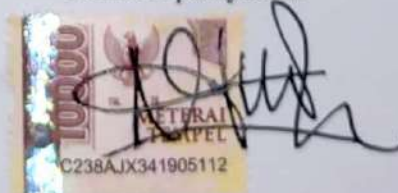
LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

1. Skripsi dengan judul "Perbedaan Antara Efek Pemberian Gel Ekstrak Bawang Putih Segar dengan Gel Ekstrak *Aged Black Garlic* Terhadap Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat II Fase Inflamasi pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur *Wistar*" adalah hasil karya sendiri dan tidak ada melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai dengan etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

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

Bandar Lampung, 8 Juli 2021
Pembuat pernyataan



A yellow rectangular stamp is placed over the signature. The stamp features the Garuda Pancasila emblem at the top, followed by the text 'KETERANGAN' and 'KAMPUS'. Below this, the alphanumeric code 'C238AJX341905112' is printed.

Qotrunnada Salsabila
NPM 1718011128

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Purwokerto pada tanggal 21 Desember 1999, sebagai anak pertama dari tiga bersaudara dari Bapak Riyadi dan Ibu Evi Andriana.

Pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) diselesaikan di TK Parkit Dharma Wanita pada tahun 2005, Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SD Jaya Suti Abadi pada tahun 2011, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMP Negeri 1 Kota Bekasi pada tahun 2014, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMA Negeri 1 Kota Bekasi pada tahun 2017.

Pada tahun 2017, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif pada organisasi LUNAR sebagai anggota periode 2018/2019.

SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan kepada ALLAH SWT karena atas rahmat dan karunia-Nya di sepanjang hidup penulis serta dalam proses pembuatan skripsi ini sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Perbedaan Antara Efek Pemberian Gel Ekstrak Bawang Putih Segar dengan Gel Ekstrak *Aged Black Garlic* terhadap Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat II Fase Inflamasi Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur *Wistar*”.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis mendapat banyak masukan, bantuan, dorongan, saran, bimbingan, dan kritik dari berbagai pihak. Maka pada dari itu, dengan segala kerendahan hati, penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Karomani, M.Si, selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Prof. Dr. Dyah Wulan Sumekar Rengganis Wardani, SKM., M. Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
3. Dr. Hendri Busman, M.Biomed selaku Pembimbing 1 yang selalu bersedia memberikan kebaikan, waktu, tenaga, dan pikiran beliau untuk mengarahkan, membimbing, dan memberikan saran juga kritik yang membangun penulis untuk dapat menyelesaikan skripsi ini.

4. dr. Helmi Ismunandar, S.Ked., Sp.OT selaku Pembimbing 2 yang tak pernah lelahnya memberikan bimbingan, saran, dan kritik kepada penulis di sela-sela kesibukan beliau sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. dr. Rizki Hanriko, S.Ked., Sp.PA, selaku Pembahas dalam skripsi ini yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran, serta kritik yang membangun kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
6. dr. Dian Isti Angraini, MPH selaku Pembimbing Akademik atas kesediaan beliau memberikan arahan, masukan, dan motivasi kepada penulis selama proses pembelajaran di kampus, juga untuk segala ilmu dan pengalaman hidup yang tidak akan bisa didapatkan di tempat lain selain di bangku perkuliahan.
7. Seluruh dosen, staf, dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas waktu, bantuan, ilmu, dan pengalamannya yang telah diberikan kepada penulis selama proses perkuliahan sampai penyusunan skripsi.
8. Orang tuaku tercinta, Bapak Riyadi dan Ibu Evi Andriana. Terima kasih sudah jadi orangtua terbaik untuk Nada, Darvesh, dan juga Fazle yang selalu mengusahakan segala sesuatunya demi tercapainya kehidupan yang paling baik bagi kami bertiga. Terima kasih juga sudah melahirkan Kakak, juga jadi alasan bagi Kakak untuk tetap hidup dan melangkah.
9. Adik-adikku tersayang, Darvesh Afzaal Haqqani dan Fazle Mawla Ziyada. Terima kasih banyak atas pinjaman bahunya dan sesi-sesi telepon tengah malamnya di saat Kakak butuh tempat untuk menangis, juga sudah menerima si Sulung yang masih banyak kurangnya ini dengan begitu tulus.

10. Sahabat-sahabat tercintaku *Little Bee* yang telah membantu dalam seluruh proses kehidupan, menemani manis-pahitnya masa kuliah, juga acapkali direpotkan terkait proses penelitian ini: Depik, Cynthia, Clara, Hillery, Dicky, Rifqi, dan Ridha –atas seluruh pengorbanan waktu, kasih sayang, serta dukungan yang selalu diberikan kepada penulis. Terima kasih sudah berjuang bersama, tertawa dan menangis bersama, juga jadi rumah kedua ternyaman untukku di tanah perantauan.
11. Sahabat tersayang dan teman *sambat* sejak SMA, Anas. Terima kasih sudah selalu jadi batu pegangan yang konstan untukku yang sering turbulen ini.
12. Kakak *online* dan mentor terbaik, Kak Ananda. Terima kasih banyak atas semua ketulusan, saran, pendapat, wejangan, ilmu, dan diskusi berkualitas yang selalu diusahakan di tengah-tengah kesibukannya. Terima kasih banyak karena tidak ada bosan-bosannya Kakak mengingatkan bahwa manusia hanya perlu banyak belajar untuk memaafkan diri sendiri ketika berbuat kesalahan.
13. Sahabatku Arovan yang selalu mengambil peran sebagai sahabat laki-laki terbaik yang pernah kupunya. Terima kasih atas seluruh waktu, kesabaran, dan dukungan yang betul-betul tulus diberikan untuk seorang teman yang belum bisa memberikan kembali sebesar apa yang sudah diterima.
14. Sahabat-sahabat TBS sedari SMA yang dahulu ketika kumpul di kantin selalu pesan soto krispi Bu Dayat atau *mlipir* ke rumah Anas namun sekarang sibuknya minta ampun –Anas, Ica, Niken, Afifah, dan Rizka. Terima kasih banyak atas seluruh bantuannya, baik fisik maupun moril,

yang selalu diberikan mulai dari sejak bangku SMA hingga sudah kepala dua seperti sekarang.

15. Teman-teman *Kos Mate*: Depik, Hasna, Nowe, Mbajul, Teteh, dan Nike yang saling membantu di tengah kesulitan beradaptasi di tanah perantauan. Terima kasih banyak atas seluruh ketukan pintu di kala subuh, makanan sahur dan buka puasanya, kejutan-kejutan ulang tahun, dan waktu tengah malam belajar ujian dan latihan OSCE bersama selama 7 semester ini.
16. Teman-teman seperjuangan V17REOUS yang tidak bisa kusebutkan satu persatu namanya –terima kasih atas kerja sama, dukungan, dan bantuannya selama 7 semester ini.
17. Seluruh pihak yang telah membantu dalam proses pembuatan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan namanya satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik serta saran yang bersifat membangun demi perbaikan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi setiap yang membacanya.

Bandar Lampung, 8 Juli 2021

Penulis,

Qotrunnada Salsabila

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI.....	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.3.1 Tujuan Umum	6
1.3.2 Tujuan Khusus	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1 Bagi Peneliti.....	7
1.4.2 Bagi Institusi	7
1.4.3 Bagi Masyarakat	7
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 8
2.1 Kulit.....	8
2.1.1 Anatomi Kulit	8
2.1.2 Fungsi Kulit	11
2.2 Penyembuhan Luka	11
2.2.1 Klasifikasi	12
2.2.2 Proses Penyembuhan Luka	12
2.3 Luka Bakar	14
2.3.1 Etiologi.....	14

2.3.2	Patofisiologi	15
2.3.3	Diagnosis	19
2.3.4	Perawatan Luka.....	23
2.3.5	Komplikasi.....	25
2.4	Inflamasi	26
2.4.1	Definisi.....	26
2.4.2	Jenis Inflamasi	26
2.4.3	Mekanisme Terjadinya Inflamasi	26
2.4.4	Tanda-tanda Inflamasi	28
2.5	Bawang Putih.....	29
2.5.1	Klasifikasi Ilmiah.....	30
2.5.2	Komponen Bioaktif.....	30
2.5.3	Manfaat Terapeutik.....	31
2.6	<i>Aged Black Garlic</i>	32
2.6.1	Komponen Bioaktif.....	33
2.6.2	Manfaat Terapeutik.....	34
2.7	Tikus	35
2.8	Kerangka Teori	37
2.9	Kerangka Konsep	38
2.10	Hipotesis	38

BAB III METODE PENELITIAN 40

3.1	Jenis dan Desain Penelitian	40
3.2	Waktu dan Tempat Penelitian	40
3.2.1	Waktu Penelitian.....	40
3.2.2	Tempat Penelitian	40
3.3	Populasi dan Sampel.....	41
3.3.1	Populasi.....	41
3.3.2	Sampel	41
3.3.3	Kelompok Perlakuan.....	42
3.3.4	Teknik Sampling.....	44
3.4	Kriteria Penelitian.....	44
3.4.1	Kriteria Inklusi	44
3.4.2	Kriteria Eksklusi	44
3.5	Alat dan Bahan	45

3.5.1	Alat-alat yang Digunakan	45
3.5.2	Bahan-bahan yang Digunakan	45
3.6	Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional	46
3.6.1	Identifikasi Variabel	46
3.6.2	Definisi Operasional	46
3.7	Prosedur Penelitian	47
3.7.1	Prosedur Penelitian	47
3.7.2	Alur Penelitian	52
3.8	Analisis Data	53
3.9	Etika Penelitian.....	53
3.10	<i>Dummy Table</i>	55
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	57
4.1	Hasil.....	57
4.2	Pembahasan	62
BAB V	SIMPULAN DAN SARAN.....	67
5.1	Simpulan.....	67
5.2	Saran.....	67
DAFTAR PUSTAKA.....		70
LAMPIRAN.....		82

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Aturan Sembilan sebagai instrumen penentuan luas luka bakar pada keseluruhan LPB.....	19
2. Klasifikasi berat ringannya luka bakar menurut <i>American Burn Association</i>	23
3. Kelompok Perlakuan.....	43
4. Definisi Operasional.....	47
5. Komposisi gel ekstrak bawang putih segar dan <i>aged black garlic</i>	50
6. Hasil skoring pengamatan penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi pada tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) jantan galur <i>Wistar</i>	55
7. Uji One-Way ANOVA setiap kelompok perlakuan	55
8. Uji Posthoc setiap kelompok perlakuan.....	56
9. Detail Skoring Luka Masing-masing Kelompok di Hari Ke-7.....	59
10. Rerata Skor Instrumen Penilaian Luka BJWA.....	60
11. Hasil Uji <i>One-Way ANOVA</i>	61
12. Hasil Uji Posthoc <i>Tukey HSD</i>	62

13. Hasil Uji Fitokimia Bawang Putih Segar	63
14. Perbandingan Kandungan Gula Bebas Antara Bawang Putih Segar dengan <i>Aged Black Garlic</i>	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kulit tebal: lapisan epidermis	10
2. Kulit tipis: epidermis dan isi dermis	11
3. Model Luka Bakar Jackson 1947	16
4. Diagram Lund-Browder yang digunakan sebagai instrumen penentuan % LPB pada anak	20
5. Tiga derajat luka bakar.....	22
6. Bawang putih segar	29
7. Perbedaan penampilan bawang putih segar dengan <i>aged</i> <i>black garlic</i>	32
8. <i>Aged black garlic</i> sebagai hasil dari fermentasi bawang putih segar	33
9. Tikus putih galur <i>Wistar</i>	35
10. Kerangka Teori	37
11. Kerangka Konsep	38
12. Alur Penelitian	52
13. Grafik Rerata Skoring <i>Bates-Jensen Wound Assessment Tool</i>	57

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. *Bates-Jensen Wound Assessment Tool*
- Lampiran 2. Tabulasi Data
- Lampiran 3. Hasil Analisis Data dengan SPSS
- Lampiran 4. Surat Persetujuan Etik
- Lampiran 5. Surat Determinasi Bawang Putih Segar
- Lampiran 6. Surat Determinasi *Aged Black Garlic*
- Lampiran 7. Surat Keterangan Ekstraksi Simplisia
- Lampiran 8. Sertifikat Hewan Coba
- Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu kejadian yang sering terjadi pada masyarakat adalah luka bakar (*combustio*). Menurut WHO, diperkirakan terjadi kasus kematian akibat luka bakar yang disebabkan karena api sebesar 265.000 tiap tahunnya, di mana jumlahnya masih akan bertambah bila digabungkan dengan jumlah kasus kematian karena luka bakar yang diakibatkan siraman air atau uap panas, luka bakar akibat listrik, dan sebab-sebab luka bakar lain, yang mana statistik secara globalnya tidak diketahui secara pasti. Prevalensi luka bakar di dunia sebagian besar terjadi di negara berpenghasilan rendah sampai menengah, dengan data yang menunjukkan bahwa wilayah Asia Tenggara dan Afrika menjadi penyumbang angka terbesar sebanyak 60% kasus kematian setiap tahunnya (World Health Organization, 2018). Sedangkan di Indonesia, kejadian luka bakar terjadi sebesar 0,7% berdasarkan Riset Kesehatan Dasar tahun 2013, dengan prevalensi tertinggi luka bakar terjadi pada kelompok usia 1-4 tahun dengan insiden mencapai 1,5% (Kementerian Kesehatan RI, 2013).

Dikutip dari Gurtner (2014), luka bakar adalah rusak atau hilangnya jaringan yang disebabkan oleh kontak dengan sumber panas seperti terkena air atau uap panas, tersentuh benda panas, jilatan api dan kobaran api di tubuh, kontak dengan zat kimia korosif, sengatan listrik, dan sengatan matahari. Luka bakar dapat menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan kulit, peningkatan permeabilitas pembuluh kapiler, bahkan dalam kondisi serius dapat menyebabkan komplikasi gagal organ. Berdasarkan kedalamannya, luka bakar dapat dibagi menjadi tiga derajat, yaitu derajat I, derajat II (A/B), dan derajat III. Pada luka bakar derajat II, kerusakan terjadi pada seluruh lapisan epidermis atau sebagian lapisan dermis (Tolles, 2018).

Pada umumnya proses penyembuhan luka dibagi menjadi empat fase, yaitu fase homeostasis, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi (Schreml *et al.*, 2010). Apabila salah satu proses ini terganggu, seperti pada fase inflamasi, maka penyembuhan luka tidak dapat berlanjut ke fase selanjutnya. Agar proses tersebut dapat berlangsung dengan tepat serta menghindari terjadinya proses inflamasi kronis, maka diperlukan penggunaan zat yang mendukung proses penyembuhan luka seperti obat anti-inflamasi.

Respon inflamasi dalam tubuh ditandai dengan adanya berbagai mediator, seperti sitokin pro-inflamasi berupa interleukin (IL-1, IL-6, IL-12, dan IL-18), *tumor necrosis factor* (TNF), dan interferon (INF)- γ . Selain itu, nitrit oksida dan enzim siklooksigenase (COX)-2 memicu pelepasan mediator pro-inflamasi (Mueller, Hobiger, dan Jungbauer, 2010). Secara umum, penatalaksanaan respon inflamasi dibagi menjadi dua, di antaranya adalah

pemberian obat anti-inflamasi non-steroid (OAINS) dan steroid. Kemampuan obat anti-inflamasi adalah dengan cara menghambat pembentukan prostaglandin melalui penghambatan kerja enzim siklooksigenase. Enzim siklooksigenase bekerja melalui jalur pembentukan prostaglandin dan tromboksan dari konversi asam arakidonat. Sehingga melalui penghambatan enzim siklooksigenase, maka asam arakidonat tidak dapat diubah menjadi prostaglandin dan tromboksan (Zahra dan Carolia, 2017).

Namun, ssetiap penggunaan obat kimia pasti memiliki efek samping. Efek samping yang ditimbulkan pun beragam, seperti respon simptomatik khas konsumsi OAINS salisilat, potensi toksisitas sistemik, dan efek teratogenik (Mufimah, Hidayat, dan Budiharto, 2018). Menurut Septiana (2018), seiring adanya peningkatan kebutuhan atas alternatif pengobatan yang aman, efektif, ekonomis, dan mempunyai kegunaan yang sama dengan obat-obatan kimia, masyarakat mulai beralih ke pengobatan herbal. Salah satu tanaman rempah sebagai alternatif obat-obatan kimia yang diyakini memiliki banyak manfaat terhadap kesehatan, terutama dalam penyembuhan luka, adalah bawang putih.

Selain telah banyak digunakan sebagai pemberi rasa pada makanan, bawang putih juga sudah lama dikenal sebagai tanaman herbal. Dalam beberapa dekade terakhir, bawang putih telah menunjukkan manfaat farmakologisnya lewat aktivitas antioksidan, proteksi kardiovaskular, antikanker, anti-inflamasi, imunomodulator, antidiabetes, antiobesitas, dan antibakteri (Boonpeng *et al.*, 2014; Hayat *et al.*, 2016; Lee *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2016; Percival, 2016; Seckiner *et al.*, 2014; Yun *et al.*, 2014). Namun di antara

keunggulan-keunggulan bawang putih dalam bidang ilmu kesehatan, bawang putih juga mempunyai kelemahan, seperti bau yang menyengat dan rasa yang agak pedas. Selain itu, bawang putih juga memiliki efek samping pada anemia hemolitik dan gangguan gastrointestinal (Bayan *et al.*, 2014).

Maka, salah satu cara alternatif yang dilakukan untuk menghilangkan sifat tersebut adalah melalui pengolahan panas. Bawang putih diberi perlakuan yang mampu meningkatkan cita rasa dan menciptakan kualitas baru dari bawang putih, namun tanpa menghilangkan komponen zat aktif yang terkandung dalam bawang putih segar. Produk ini disebut *aged black garlic* (Nelwida *et al.*, 2019). *Aged black garlic* adalah produk pemanasan dari bawang putih pada suhu 70°C dengan kelembaban relatif 70-80% selama 30-40 hari tanpa perlakuan tambahan apapun (Wang *et al.*, 2012).

Secara susunan senyawa, bawang putih segar dan *aged black garlic* memiliki beberapa perbedaan, terutama pada senyawa organosulfurnya. Pada bawang putih segar, *allicin* dapat ditemukan sebagai salah satu senyawa organosulfur yang tidak stabil secara kimiawi, yang juga telah dibuktikan sebagai agen anti-inflamasi (Shin *et al.*, 2013). Sedangkan pada *aged black garlic* masih dapat ditemukan beberapa senyawa organosulfur, baik yang larut dalam air maupun lemak, tetapi tidak ditemukan lagi *allicin* sebagai salah satu senyawa organosulfurnya. Selama proses fermentasi, beberapa senyawa organosulfur yang tidak stabil secara kimiawi pada bawang putih segar diubah menjadi senyawa organosulfur yang lebih stabil pada *aged black garlic*, seperti piruvat dan *S-allylcystein* (SAC). Senyawa-senyawa ini telah diteliti memiliki

aktivitas antioksidan yang kuat, sehingga *aged black garlic* terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan bawang putih segar (Jeong et al., 2016). Banyak studi telah dilakukan untuk membuktikan perbandingan aktivitas antioksidan dari bawang putih segar dan *aged black garlic*, tetapi masih sedikit yang meneliti perbandingan aktivitas anti-inflamasinya.

Berdasarkan uraian masalah tersebut, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai perbedaan antara efek pemberian gel ekstrak bawang putih segar dengan gel ekstrak *aged black garlic* terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dari latar belakang, didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah terdapat efek pemberian gel ekstrak bawang putih segar terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar?
2. Apakah terdapat efek pemberian gel ekstrak *aged black garlic* terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar?
3. Apakah terdapat perbedaan antara efek pemberian gel ekstrak bawang putih segar dan gel ekstrak *aged black garlic* terhadap proses

penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Wistar*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui perbedaan proses penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi secara makroskopis antara pemberian topikal gel ekstrak bawang putih segar dan gel ekstrak *aged black garlic* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Wistar*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui apakah terdapat efek pemberian gel ekstrak bawang putih segar terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Wistar*.
2. Mengetahui apakah terdapat efek pemberian gel ekstrak *aged black garlic* terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Wistar*?

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat:

1.4.1 Bagi Peneliti

Menambah ilmu pengetahuan dan pengalaman dari melakukan penelitian mengenai perbedaan antara efek pemberian gel ekstrak bawang putih segar dengan gel ekstrak *aged black garlic* terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Wistar*.

1.4.2 Bagi Institusi

Menambah bahan kepustakaan dalam lingkungan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung tentang manfaat anti-inflamasi dari bawang putih segar dan *aged black garlic*.

1.4.3 Bagi Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai manfaat anti-inflamasi dari bawang putih segar dan *aged black garlic* terhadap proses penyembuhan luka.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit

Kulit adalah suatu organ pembungkus seluruh permukaan luar tubuh serta merupakan organ terberat dan terbesar dari tubuh. Perdanakusuma (2012) menyatakan bahwa kulit memiliki tebal yang beragam, mulai dari 0,5 mm sampai 6 mm tergantung letak, umur, dan jenis kelamin. Kulit terdiri atas dua regio tersendiri: epidermis di superfisial dan dermis di dalam. (Eroschenko, 2013).

2.1.1 Anatomi Kulit

Secara embriologis, kulit berasal dari dua lapisan yang berbeda. Lapisan luar yang berasal dari lapisan ektoderm adalah epidermis yang merupakan lapisan epitel, sedangkan lapisan dalam yang berasal dari lapisan mesoderm adalah dermis yang merupakan lapisan jaringan ikat (Perdanakusuma, 2012).

1. Epidermis

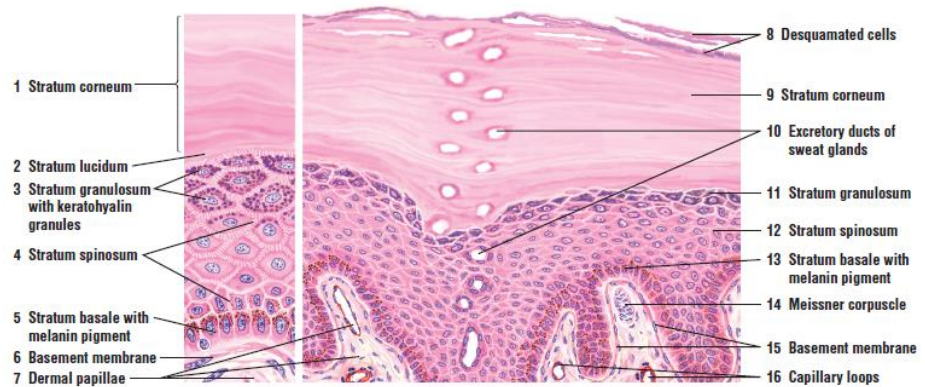
Disadur dari Mescher (2013), epidermis terdiri atas epitel berlapis gepeng berkeratin yang disebut keratinosit. Terdapat empat jenis sel di epidermis kulit: keratinosit, sel melanosit, sel Langerhans, dan sel Merkel. Keratinosit adalah sel yang paling dominan;

membelah diri, tumbuh, bermigrasi ke atas, mengalami keratinisasi atau kornifikasi, dan membentuk lapisan epidermis permukaan kulit yang protektif. Di kulit tebal, dapat teridentifikasi lima lapisan sel yang berbeda (Eroschenko, 2013).

Stratum basale adalah lapisan terdalam atau dasar dari epidermis. Lapisan ini terdiri dari satu lapisan sel silindris atau kuboid yang terletak pada membrane basale yang memisahkan dermis dari epidermis. Sel-sel di stratum basale terus-menerus membelah diri dan menjadi matang pada sewaktu bermigrasi ke atas menuju lapisan superfisial. Sewaktu membelah diri dengan mitosis, keratinosit bergerak ke atas epidermis dan membentuk lapisan keratinosit kedua atau stratum spinosum yang terdiri dari empat sampai enam baris sel. Sel-sel yang mengalami pematangan dan bergerak ke atas stratum spinosum mengakumulasi granula keratohialin basofilik padat dan membentuk lapisan ketiga, yakni stratum granulosum. Lapisan ini dibentuk oleh tiga sampai lima lapisan sel gepeng.

Lapisan yang keempat yaitu stratum lusidum yang tampak translusen dan hanya terdapat pada kulit tebal; lapisan ini terletak tepat di atas stratum granulosum dan di bawah stratum korneum. Stratum korneum adalah lapisan kulit kelima dan paling superfisial. Semua nukleus dan organel telah lenyap dari sel. Stratum korneum terutama terdiri dari sel-sel gepeng mati yang

terisi filamen keratin lunak. Sel-sel superfisial yang mengalami keratinisasi dari lapisan ini secara terus menerus terlepas, atau mengalami deskuamasi, dan digantikan oleh sel-sel baru yang berasal dari stratum basale (Eroschenko, 2013).



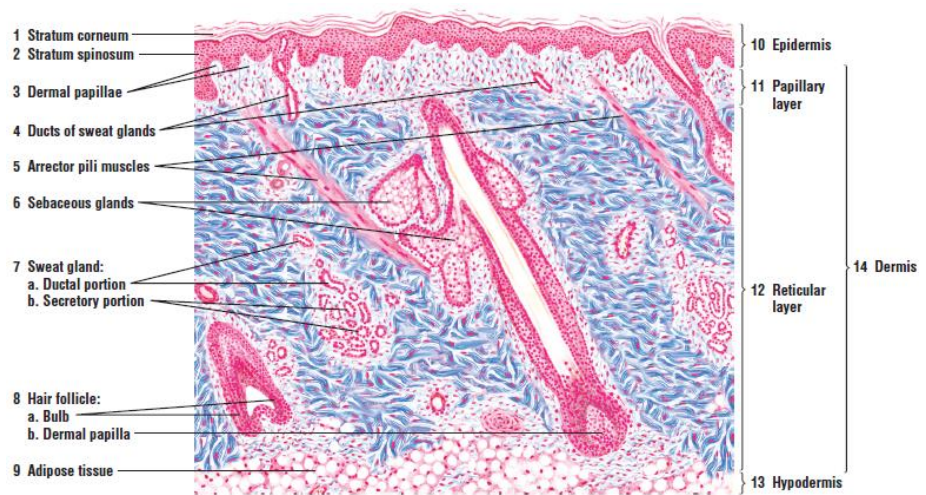
Gambar 1. Kulit tebal: lapisan epidermis (Eroschenko, 2013)

2. Dermis

Dermis adalah suatu lapisan jaringan ikat yang menunjang epidermis dan mengikatnya pada jaringan subkutan. Dermis memiliki permukaan yang sangat iregular dan memiliki banyak tonjolan yang disebut papila dermis yang saling mengunci dengan juluran epidermis (Mescher, 2013).

Dalam Mescher (2013), dermis tersusun atas dua lapisan dengan batas yang tidak terlihat nyata, lapisan papilar di sebelah luar dan lapisan retikular di sebelah dalam. Lapisan papilar dermis mengandung serat jaringan ikat longgar ireguler, kapiler, pembuluh darah, fibroblas, makrofag, dan sel jaringan ikat longgar lainnya. Lapisan dermis yang lebih dalam, lapisan retikular, lebih tebal, yang ditandai oleh serat jaringan ikat ireguler padat

(terutama kolagen tipe I) dan kurang selular dibandingkan dengan lapisan papilar. Lapisan dermis ini juga dapat menahan stres mekanis yang lebih besar serta dapat menunjang saraf, pembuluh darah, folikel rambut, dan semua kelenjar keringat (Eroschenko, 2013).



Gambar 2. Kulit tipis: epidermis dan isi dermis (Eroschenko, 2013)

2.1.2 Fungsi Kulit

Beberapa dari banyak fungsi kulit termasuk perlindungan terhadap fisik, kimiawi dan serangan biologik; memberi perlindungan terhadap air; menyerap radiasi sinar ultraviolet oleh adanya vitamin D untuk sintesis dan perlindungan; ekskresi (misalnya keringat) dan termoregulasi; pengamatan mileu eksternal melalui berbagai ujung saraf; dan pertahanan imunologik tubuh (Gartner dan Hiatt, 2013).

2.2 Penyembuhan Luka

Luka adalah suatu bentuk kerusakan pada integritas jaringan biologis, seperti pada kulit, membran mukosa, atau jaringan organ lain. Inflamasi, infeksi, atau

sisia debris dapat memperpanjang atau menghambat penyembuhan yang optimal (Purnama dan Ratnawulan, 2017).

2.2.1 Klasifikasi

Berdasarkan waktu penyembuhannya, luka dapat digolongkan menjadi luka akut dan luka kronis (Purnama dan Ratnawulan, 2017).

1. Luka akut

Dikutip dari Nicks *et al.* (2010), luka akut adalah cedera yang terjadi pada kulit yang terjadi secara tiba-tiba dan bukan secara bertahap penyebab luka akut dapat disebabkan karena kecelakaan, trauma, luka bakar, atau hasil dari tindakan medis.

2. Luka kronik

Berdasarkan definisi saat ini, sebuah luka akan dianggap kronik apabila waktu penyembuhan tidak mengikuti alur yang diharapkan, sehingga proses penyembuhan seluruhnya mengalami perlambatan. Namun dari definisi tersebut, sampai saat ini masih belum dapat ditentukan secara pasti jangka waktu penyembuhan yang ditempuh atau pada titik waktu apa untuk sebuah luka dapat dikatakan sebagai luka kronik (Martinengo *et al.*, 2019).

2.2.2 Proses Penyembuhan Luka

Proses penyembuhan luka digolongkan menjadi empat tahap, meliputi homeostasis, inflamasi, proliferasi, dan maturasi (Schreml *et al.*, 2010).

1. Homeostasis

Pendarahan mengaktifkan sistem homeostasis yang menginisiasi komponen eksudat, seperti faktor pembekuan darah. Fibrinogen di dalam eksudat memiliki mekanisme pembekuan darah dengan cara koagulasi terhadap eksudat (darah tanpa sel dan platelet) dan pembentukan jaringan fibrin, kemudian memproduksi agen pembekuan darah dan menyebabkan pendarahan berhenti (Mathur *et al.*, 2015).

2. Inflamasi

Tahap ini berlangsung sampai 3-4 hari pasca luka. Fase ini dimulai setelah luka kutaneus didominasi oleh reaksi inflamasi yang dimediasi sitokin, kemokin, *growth factor*, dan efeknya pada reseptor seluler (Schreml *et al.*, 2010). Luka pada tahap inflamasi akan memberikan gambaran yang edema, hiperemia, dan nyeri (Alvarenga *et al.*, 2015).

3. Proliferasi

Tahap proliferasi dimulai sejak hari ke 4-20 pasca luka dan terjadi secara langsung dengan terjadinya proliferasi sel basal selama 2-3 hari. Tahap ini terdiri dari neoangiogenesis, pembentukan jaringan granulasi, dan re-epitelisasi (Schreml *et al.*, 2010).

4. Maturasi

Pada fase ini, berbagai macam proteinase berkontribusi dalam proses penyembuhan luka yang terkoordinasi. Fase maturasi berlangsung setelah beberapa hari pasca luka dan dapat berlangsung hingga dua tahun (Schreml *et al.*, 2010).

2.3 Luka Bakar

Dikutip dari Gurtner (2014), luka bakar adalah rusak atau hilangnya jaringan yang disebabkan kontak dengan sumber panas seperti terkena air atau uap panas (*scald*), tersentuh benda panas, jilatan api ke tubuh (*flash*), kobaran api di tubuh (*flame*), sengatan listrik, kontak dengan zat korosif, dan sengatan matahari (*sunburn*). Kerusakan pada lapisan kulit yang terpapar dipengaruhi oleh faktor penyebab terjadinya luka bakar dan lamanya kulit kontak dengan sumber panas, sedangkan kedalaman luka dipengaruhi oleh lamanya kulit kontak dengan sumber panas (Warby dan Maani, 2019).

2.3.1 Etiologi

1. Suhu panas

Penyebab dari luka bakar termal adalah terpapar oleh suhu panas, biasanya karena kontak dengan permukaan panas, cairan panas, uap panas, atau api (Fitriana, 2014).

2. Senyawa kimia

Luka bakar kimia (*chemical burns*) disebabkan oleh adanya kontak dengan asam atau basa kuat. Luas cedera karena zat ini ditentukan oleh konsentrasi zat kimia, lamanya kontak, dan banyaknya jaringan yang terpapar (Rahayuningsih, 2012).

3. Listrik

Dikutip dari Bounds dan Kok (2020), luka bakar elektrik (*electrical burns*) terjadi ketika adanya kontak dengan sumber listrik, baik

secara material maupun melalui material konduktor. Lamanya kontak, tinggi voltase, dan cara gelombang listrik sampai mengenai tubuh mempengaruhi berat ringannya luka (Rahayuningsih, 2012).

4. Radiasi

Luka bakar radiasi (*radiation burns*) disebabkan oleh paparan dengan zat radioaktif. Tipe luka bakar ini seringkali berhubungan dengan penggunaan radiasi ion pada industri atau dari sumber radiasi untuk keperluan terapeutik pada dunia kedokteran. (Rahayuningsih, 2012).

2.3.2 Patofisiologi

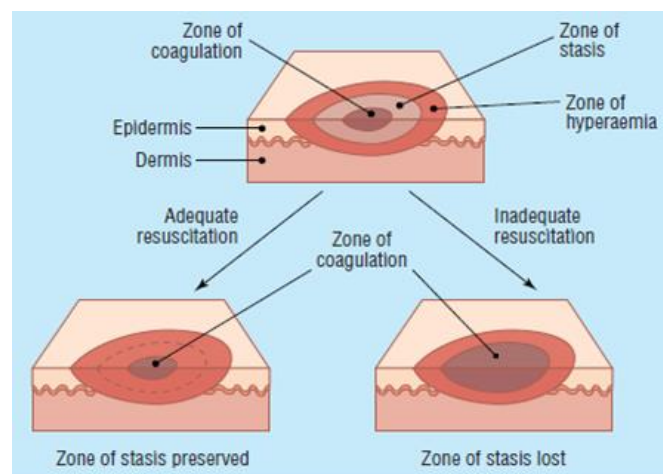
A. Perubahan Lokal

Luka bakar memicu nekrosis koagulatif dari berbagai lapisan kulit maupun jaringan yang ada di bawahnya. Tingkat keparahan luka ditentukan dari sumber energi agen kausatif, tingkat paparan, dan juga besar suhu panas yang kontak dengan kulit (Kaddoura *et al.*, 2017).

Pada prinsipnya, Jackson pada tahun 1947 membagi zona kerusakan luka bakar pada kulit atas 3 zona (Yin, 2017).

1. Zona koagulasi: zona ini merupakan bagian tengah dari luka bakar dengan daerah nekrosis koagulatif lengkap. Zona ini ditandai dengan kerusakan jaringan ireversibel (Kaddoura *et al.*, 2017).

2. Zona stasis: terletak di pinggir zona koagulasi. Daerah ini mengalami kerusakan tingkat sedang dikarenakan adanya kebocoran vaskular, peningkatan konsentrasi vasokonstriktor, maupun reaksi inflamasi lokal sehingga menyebabkan adanya penurunan perfusi jaringan. Zona ini masih berpotensi untuk dapat diselamatkan, sehingga tujuan utama dari resusitasi luka bakar adalah untuk meningkatkan perfusi jaringan pada zona ini dan mencegah terjadinya kerusakan jaringan ireversibel (Rowan *et al.*, 2015).
3. Zona hiperemis: akibat adanya vasodilatasi yang disebabkan karena terjadinya inflamasi, zona ini ditandai dengan adanya peningkatan suplai darah dan jaringan sehat tanpa resiko kerusakan yang besar (Kaddoura *et al.*, 2017).



Gambar 3. Model Luka Bakar Jackson 1947 (Hettiaratchy dan Dziewulski dalam Trainor dan McClure (2014))

B. Perubahan Sistemik

Luka bakar yang melebihi 30% dari luas permukaan tubuh/LPB (*total body surface area/TBSA*) menyebabkan hipovolemia

ditambah dengan adanya pembentukan dan pelepasan mediator inflamasi serta munculnya efek sistemik selanjutnya, yaitu disfungsi kardiovaskular yang juga dikenal dengan istilah *burn shock* (Rae *et al.*, 2016). Bahkan dengan resusitasi cairan yang adekuat dan tepat waktu, kondisi patofisiologi ini tidak sepenuhnya reversibel dan resistensi vaskular sistemik maupun pulmonal akan meningkat dan diikuti oleh depresi miokard. Hal ini nantinya akan memicu eksaserbasi respon inflamasi lebih lanjut dan meningkatkan resiko dari gagal organ (Kaddoura *et al.*, 2017)

Pembentukan edema adalah salah satu ciri patofisiologi lain dari luka bakar. Satu jam setelah paparan yang disebut dengan fase pertama edema, fase ini memberi gambaran klinis berupa peningkatan akumulasi cairan di jaringan trauma. Fase kedua terjadi pada 12-24 jam pasca paparan dan memberikan gambaran berupa peningkatan akumulasi cairan yang lebih lanjut pada kulit yang terbakar maupun yang masih intak juga jaringan lunak di sekitarnya (Kaddoura *et al.*, 2017)).

Ginjal juga selanjutnya akan terdampak setelah terjadi beberapa perubahan pada sistem kardiovaskular. Aliran darah ke ginjal dan laju filtrasi glomerulus (*glomerular filtration rate/GFR*) mengalami penurunan setelah terjadi hipovolemia, penurunan curah jantung, serta munculnya efek dari angiotensin, vasopresin, dan aldosteron. Perubahan yang terjadi pada ginjal ini biasanya

ditandai dengan adanya oliguria sebagai gejala pertama dari gangguan ginjal. Kegagalan dalam menangani gangguan ginjal yang disebabkan oleh luka bakar dapat menyebabkan nekrosis tubular akut, gagal ginjal, bahkan kematian (Kaddoura *et al.*, 2017).

Pengaruh dari luka bakar terhadap sistem gastrointestinal pun tidak dapat diremehkan, ditandai dengan atrofi mukosa, penurunan kapasitas absorpsi, dan peningkatan permeabilitas permukaan. Sejalan dengan besar ukuran dari luka bakar, terjadi kematian sel epitel secara apoptosis, yang akan memicu degenerasi mukosa usus. Atrofi mukosa selanjutnya menyebabkan beberapa gangguan pada fungsi penyerapan sistem pencernaan, terutama dalam penyerapan glukosa, asam amino, dan asam lemak (Kaddoura *et al.*, 2017).

Respon endokrin adalah salah satu reaksi sistemik yang ditunjukkan pada pasien luka bakar serius dan ditandai dengan adanya perubahan signifikan pada aksis hormon hipotalamus-hipofisis. Hormon-hormon yang aktif terlibat pada awitan trauma adalah katekolamin, glukagon, dan kortisol, yang merupakan hormon stress, mengalami peningkatan yang signifikan. Peningkatan signifikan ini disebabkan oleh pengaruh sistem kardiovaskular dan gangguan cairan tubuh yang terjadi setelahnya. Hormon-hormon stres ini dianggap sebagai pemicu

dari respon hipermetabolik (katabolik dan proteolitik) tubuh (Jeschke *et al.*, 2011).

2.3.3 Diagnosis

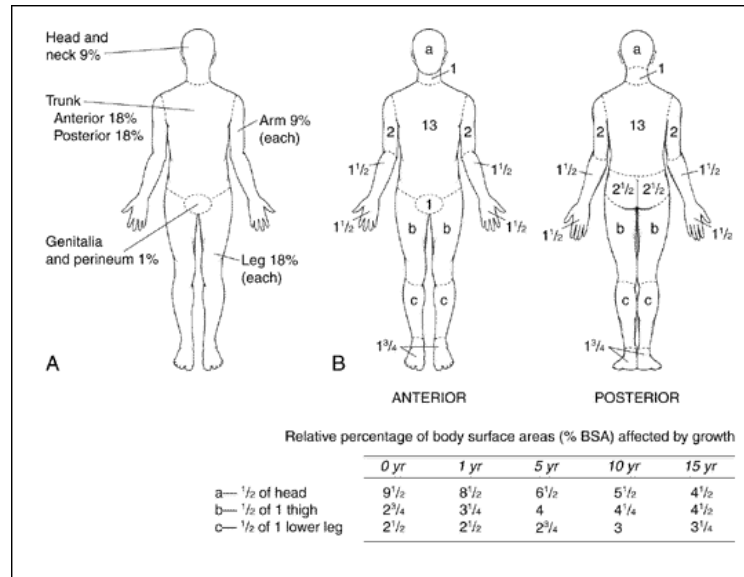
Diagnosis luka bakar dapat ditegakkan dengan cara memeriksa ukuran, kedalaman luka, mekanisme cedera, dan tingkat keparahan luka (Tintinalli, 2010).

1. Ukuran

Tingkat keparahan dan rencana terapi dapat ditentukan berdasarkan persentase dari luas permukaan tubuh/LPB (*total body surface area/TBSA*) yang terkena luka bakar. Terdapat beberapa cara untuk menentukan LPB, di antaranya termasuk Aturan Sembilan (*Rule of sNines*), tabel Lund dan Browder, serta perkiraan berdasarkan ukuran telapak tangan seseorang (Schaefer dan Szymanski, 2020).

Tabel 1. Aturan Sembilan sebagai instrumen penentuan luas luka bakar pada keseluruhan LPB (Moore dan Burns, 2018).

Bagian permukaan tubuh	% dari LPB
Kepala dan leher	9%
Batang tubuh bagian depan	18%
Batang tubuh bagian belakang	18%
Lengan dan tangan	9% untuk masing-masing lengan
Kaki	18% untuk masing-masing kaki
Genitalia	1%



Gambar 4. Diagram Lund-Browder yang digunakan sebagai instrumen penentuan % LPB pada anak (Murari dan Singh, 2019).

2. Kedalaman luka bakar

1. Luka bakar derajat I (*Superficial burn*)

Kerusakan terbatas pada lapisan epidermis superfisial, kulit kering hiperemik, berupa eritema, tidak dijumpai pula nyeri karena ujung-ujung saraf sensorik teriritasi, serta penyembuhannya terjadi secara spontan dalam waktu 5-10 hari (Brunicardi, 2010; Tolles, 2018).

2. Luka bakar derajat II (*Partial thickness burn*)

Kerusakan terjadi pada seluruh lapisan epidermis dan sebagian lapisan dermis. Gejala yang muncul berupa reaksi inflamasi disertai proses eksudasi, serta dijumpai pula adanya pembentukan *scar* dan nyeri karena ujung-ujung syaraf sensorik teriritasi. Dasar luka berwarna merah atau pucat.

Sering terletak lebih tinggi diatas kulit normal (Tolles, 2018).

Luka bakar derajat II dapat dibedakan atas dua, yaitu:

1. Derajat II A (dangkal)

Kerusakan mengenai bagian epidermis dan lapisan superfisial dermis. Organ-organ kulit seperti folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar sebacea masih utuh. Hiperemia hilang bila ditekan, bula mungkin tidak terbentuk beberapa jam setelah cedera. Luka bakar derajat II A jarang menyebabkan jaringan parut hipertropi dan dapat sembuh dalam waktu 3 minggu (Tolles, 2018).

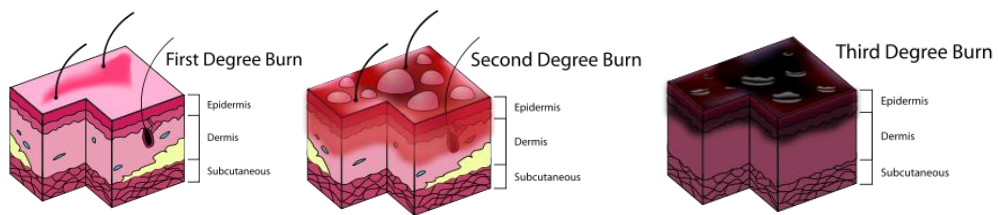
2. Derajat II B (dalam)

Kerusakan mengenai hampir seluruh bagian dermis dan sisa-sisa jaringan epitel yang masih sehat sangat sedikit. Organ-organ kulit seperti folikel-folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar sebacea sebagian besar masih utuh. Pada gejala dijumpai bula, akan tetapi permukaan luka biasanya tampak berwarna merah muda dan putih segera setelah terjadi cedera karena adanya perbedaan suplai darah dermis (Tolles, 2018).

3. Luka bakar derajat III (*Full thickness burn*)

Kerusakan pada luka bakar derajat III meliputi seluruh tebal lapisan dermis dan lapisan lebih dalam. Pada gejala tidak dijumpai bula, appendises kulit rusak, kulit yang terbakar berwarna putih dan pucat. Terjadi koagulasi protein pada

epidermis yang dikenal sebagai eskar serta tidak dijumpai rasa nyeri dan hilang sensasi karena ujung–ujung saraf sensorik mengalami kerusakan atau kematian. Penyembuhan terjadi lama karena tidak ada proses epitelisasi spontan dari dasar luka (Tolles, 2018).



Gambar 5. Tiga derajat luka bakar (Schaefer dan Szymanski, 2020).

3. Berat atau ringannya luka

Pada sistem ini, luka bakar diklasifikasikan menjadi berat, sedang, dan ringan. Keadaan ini dinilai berdasarkan sejumlah faktor, di antaranya adalah luas permukaan total tubuh yang terkena, adanya luka bakar pada bagian tubuh tertentu, usia penderita, dan cedera lain yang terkait (Wald, 2012).

Tabel 2. Klasifikasi berat ringannya luka bakar menurut *American Burn Association* (Wald, 2012)

Ringan	Sedang	Berat
Dewasa <10% LPB	Dewasa 10-20% LPB	Dewasa >20% LPB
Usia muda atau tua <5% LPB	Usia muda atau tua 5-10% LPB	Usia muda atau tua >10% LPB
<2% luka bakar yang mengenai seluruh lapisan kulit	2-5% luka bakar yang mengenai seluruh lapisan kulit	>5% luka bakar yang mengenai seluruh lapisan kulit
	Cedera tegangan tinggi	Luka bakar tegangan tinggi
	Kemungkinan cedera inhalasi	Diketahui menderita cedera inhalasi
	Luka bakar melingkar	Luka bakar signifikan pada muka, persendian, tangan, dan kaki
	Masalah kesehatan lainnya	Cedera yang berkaitan

2.3.4 Perawatan Luka

Menurut Rowan *et al.*, (2015), ada beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam perawatan luka bakar agar dapat mengoptimalkan proses penyembuhannya.

1. Inflamasi

Obat-obatan anti-inflamasi konvensional yang berfokus pada penghambatan sintesis prostaglandin, seperti anti-inflamasi non steroid atau glukokortikoid, mengganggu proses penyembuhan luka (Stone *et al.*, 2018). Namun, administrasi obat anti-inflamasi dari golongan steroid telah terbukti mengurangi inflamasi, rasa nyeri, dan lama perawatan di rumah sakit pada pasien luka bakar di beberapa studi (Rowan *et al.*, 2015).

2. Infeksi

Infeksi dapat memicu respon imun, disertai dengan sepsis atau syok sepsis, yang mengakibatkan terjadinya hipotensi dan gangguan perfusi organ termasuk kulit – seluruhnya merupakan proses yang dapat memperlambat penyembuhan luka. Infeksi bakteri gram positif dan gram negatif masih menjadi salah satu penyebab tersering dari kematian yang disebabkan karena infeksi pada kasus luka bakar (D'Avignon *et al.*, 2010). Pemberian antibiotik topikal silver sulfadiazin telah menjadi baku standar penanganan infeksi luka bakar selama beberapa dekade terakhir (Adhya *et al.*, 2014).

3. Nutrisi

Hipermetabolisme berkelanjutan, peningkatan kadar hormon, dan atrofi setelah terjadi luka bakar yang parah seluruhnya berkontribusi pada hasil klinis daripada luka bakar tersebut (Jeschke *et al.*, 2011). Maka dari itu, pemberian beberapa faktor nutrisi perlu dipertimbangkan.

4. Resusitasi

Luka bakar berat (>30% LPB) memerlukan resusitasi cairan untuk stabilisasi. Beberapa formula yang sering dipakai untuk resusitasi cairan pasien luka bakar, seperti formula Parkland, formula Brooke, atau formula Brooke/Parkland yang sudah dimodifikasi, menggunakan kristaloid seperti cairan Ringer

Laktat yang mengandung natrium, klorida, kalsium, kalium, dan laktat (Rowan *et al.*, 2015).

5. Penutupan luka dan cangkok kulit

Standar untuk penutupan luka bakar derajat III adalah cangkok kulit dari bagian kulit pasien lain yang tidak terkena luka bakar (*autograft*) karena metode cangkok tersebut menutup luka dengan memadai tanpa perlu mengkhawatirkan resiko penolakan terhadap jaringan donor (Rowan *et al.*, 2015).

2.3.5 Komplikasi

Infeksi merupakan komplikasi yang paling sering terjadi pada kasus luka bakar, kemudian diikuti dengan pneumonia, selulit, infeksi saluran kencing, dan kegagalan pernapasan (Herndon, 2012). *Staphylococcus aureus* masih menjadi penyebab utama komplikasi, diikuti oleh *methicillin-resistant S. aureus* (MRSA) seiring dengan semakin tingginya penggunaan antibiotik spektrum luas. Bakteri *Pseudomonas* adalah penyebab tersering dari komplikasi sepsis yang beresiko kematian dan *Acinetobacter* merupakan penyebab tersering komplikasi infeksi saluran kemih (Norbury *et al.*, 2016). Sedangkan pneumonia umumnya terjadi pada pasien luka bakar dengan cedera inhalasi (Jones *et al.*, 2017).

2.4 Inflamasi

2.4.1 Definisi

Menurut (Sherwood, 2014), inflamasi atau peradangan merupakan serangkaian proses bawaan non-spesifik yang saling berkaitan erat yang diaktifkan sebagai respons terhadap invasi asing, kerusakan jaringan, atau keduanya.

2.4.2 Jenis Inflamasi

Dikutip dari Robbins, Kumar, dan Cotran (2012), inflamasi terbagi menjadi dua pola dasar, yaitu:

1. Inflamasi akut, adalah inflamasi yang berlangsung relatif singkat, dari beberapa menit sampai beberapa hari, dan ditandai dengan eksudasi cairan dan protein plasma serta akumulasi leukosit neutrofilik yang menonjol.
2. Inflamasi kronis, berlangsung lebih lama yaitu berhari-hari sampai bertahun-tahun dan ditandai khas dengan influks limfosit dan makrofag disertai dengan proliferasi pembuluh darah dan pembentukan jaringan parut.

2.4.3 Mekanisme Terjadinya Inflamasi

Stimulus inflamasi mengaktifkan jalur pensinyalan yang kemudian akan mengaktivasi mediator inflamasi. Stimulus inflamasi utama, terutama produk mikrobial dan sitokin seperti interleukin- 1β (IL- 1β), interleukin-6 (IL-6), dan *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), memediasi

inflamasi lewat interaksi dengan TLRs, IL-1 *receptor* (IL-1R), IL-6 *receptor* (IL-6R), dan TNF *receptor* (TNFR) (Chen *et al.*, 2017).

Makrofag, monosit, dan sel lain yang teraktivasi memediasi respons lokal terhadap kerusakan jaringan dan infeksi. Pada tempat kerusakan jaringan, sel epitel dan endotel yang rusak melepaskan beberapa faktor yang dapat memicu kaskade inflamasi, bersamaan dengan kemokin dan *growth factor*, yang akan menarik neutrofil dan monosit ke jaringan yang cedera. Sel yang pertama tiba di tempat luka adalah neutrofil, kemudian diikuti monosit, limfosit (sel *natural killer*/sel NK, sel T, dan sel B), dan sel mast (Robb *et al.*, 2016). Monosit dapat berdiferensiasi menjadi makrofag dan sel dendritis dan ditarik ke jaringan yang luka melalui kemotaksis (Chen *et al.*, 2017).

Neutrofil merupakan mediator kunci dari respon inflamasi, dan memprogram sel *antigen presenting cells*/APC untuk mengaktivasi sel T dan melepaskan faktor-faktor lokal untuk menarik monosit dan sel dendrit (Rosales, 2018). Makrofag merupakan komponen penting dalam sistem fagosit mononuklear dan mengambil peran penting dalam memunculkan antigen, melakukan fagositosis, dan memodulasi respon imun dengan cara memproduksi sitokin dan *growth factor* (Chen *et al.*, 2017). Sel mast, yang tempatnya ada di matriks jaringan ikat dan permukaan epitel, adalah sel efektor yang menginisiasi respons inflamasi. Sel mast yang teraktivasi melepaskan berbagai macam mediator inflamasi, termasuk sitokin, kemokin, histamin,

protease, prostaglandin, leukotrien, dan proteoglikan (Theoharides *et al.*, 2012).

Stimulus mengaktivasi sel-sel inflamasi, seperti makrofag dan adiposit, yang kemudian akan menginduksi terbentuknya sitokin-sitokin, seperti IL-1 β , IL-6, TNF- α , serta protein dan enzim inflamasi. Sitokin umumnya dilepaskan dari sel imun, termasuk monosit, makrofag, dan limfosit. Sitokin pro- dan anti- keduanya memfasilitasi atau menghambat inflamasi sesuai namanya. Sitokin pro-inflamasi diklasifikasikan sebagai interleukin (IL), *colony stimulating factors* (CSF), interferon (IFN), *tumor necrosis factor* (TNF), *tumor growth factor* (TGF), dan kemokin diproduksi oleh sel untuk menarik leukosit ke tempat luka atau infeksi (Turner *et al.*, 2014).

2.4.4 Tanda-tanda Inflamasi

Tanda-tanda kardinal radang mencakup *rubor* (kemerahan), *kalor* (panas), *dolor* (rasa sakit), *tumor* (pembengkakan), dan *functio laesa* (hilang fungsi) (Ciaccia, 2011).

1. Rubor, terjadi pada tahap pertama dari inflamasi. Darah berkumpul pada jaringan yang cedera karena adanya pelepasan mediator-mediator inflamasi tubuh (prostaglandin dan histamin), menyebabkan terjadinya hiperemi pada jaringan yang luka (Robbins *et al.*, 2012).
2. Kalor, dapat disebabkan oleh bertambahnya pengumpulan darah atau mungkin karena pelepasan pirogen, yaitu substansi yang

menimbulkan demam, yang mengganggu pusat pengaturan panas pada hipotalamus (Robbins *et al.*, 2012).

3. Dolor, disebabkan karena adanya pembengkakan yang disebabkan oleh pelepasan mediator-mediator kimia (Robbins *et al.*, 2012).
4. Tumor, merupakan tahap kedua dari inflamasi, di mana plasma merembes ke dalam jaringan interstisial pada tempat cedera, menyebabkan terjadinya penumpukan cairan pada jaringan luka (Robbins *et al.*, 2012).
5. *Functio laesa*, disebabkan oleh penumpukan cairan pada cedera jaringan dan karena rasa nyeri. Keduanya mengurangi mobilitas pada daerah yang terkena (Robbins *et al.*, 2012).

2.5 Bawang Putih

Bawang putih (*Allium sativum* L.) adalah tanaman rempah semusim berumpun yang bagian bawahnya bersiung-siung, bergabung menjadi umbi besar berwarna putih. Bawang putih merupakan salah satu spesies dari keluarga bawang-bawangan Alliaceae (Salahuddin *et al.*, 2019).



Gambar 6. Bawang putih segar (Alfaro, 2019)

2.5.1 Klasifikasi Ilmiah

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Asparagales
Famili	: Alliaceae
Subfamili	: Allioideae
Bangsa	: Allieae
Genus	: <i>Allium</i>
Spesies	: <i>A. sativum</i>

2.5.2 Komponen Bioaktif

Dikutip dari Diretto *et al.* (2017), Szychowski *et al.* (2018), (Bradley, Organ, dan Lefer (2016), dan Wang *et al.* (2018), bawang putih memiliki beberapa komponen bioaktif, termasuk di antaranya adalah senyawa organosulfur, saponin, senyawa fenolik, dan polisakarida. Komponen bioaktif yang paling banyak ditemukan dalam bawang putih adalah senyawa organosulfurnya, seperti DADS, DATS, *E/Z-ajoene*, SAC, dan *alliin* (Kodera *et al.*, 2017; Mansingh *et al.*, 2018; D. Y. Yoo *et al.*, 2014; M. Yoo *et al.*, 2014). *Allicin* adalah komponen bioaktif utama yang dapat ditemukan dalam ekstrak air bawang putih. (Bayan, Koulivand, dan Gorji, 2014).

2.5.3 Manfaat Terapeutik

Pada sebuah studi, *ethyl-linoleate* pada bawang putih menurunkan produksi NO dan PGE-2 dengan cara menurunkan ekspresi iNOS dan COX-2 pada makrofag RAW 264.7 yang distimulasi oleh lipopolisakarida (Park *et al.*, 2014). Studi lain menunjukkan bahwa protein 14-kDa pada bawang putih menghambat mediator inflamasi termasuk NO, TNF- α , dan IL-1 β dengan cara menghambat transkripsi faktor jalur sinyal NF- κ B pada makrofag J774A.1 yang distimulasi lipopolisakarida (Rabe *et al.*, 2015). Senyawa polisakarida pada bawang putih memiliki efek imunomodulator dan mengatur ekspresi dari IL-6, IL-10, TNF- α , dan interferon- γ pada makrofag RAW264.7 (Park *et al.*, 2014).

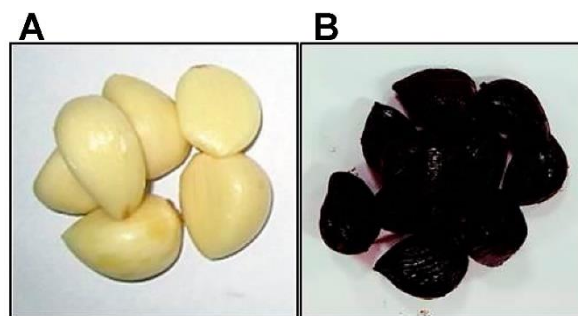
Bawang putih memiliki spektrum luas dalam aktivitas antimikrobanya. Minyak bawang putih dibuktikan memiliki aktivitas antibakteri dan antifungi dengan cara menekan pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, *Bacillus subtilis*, *Penicillium funiculosum*, dan *Candida albicans* (Guo, 2014; Li *et al.*, 2014, 2016). Pada uji klinis, tatalaksana pemberian bawang putih mentah dapat menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori* di lambung pasien dengan infeksi *H. pylori* (Zardast *et al.*, 2016).

Banyaknya literatur ilmiah mendukung usulan bahwa konsumsi bawang putih memiliki pengaruh signifikan dalam menurunkan tekanan darah, mencegah aterosklerosis, menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida dalam serum, menghambat agregasi platelet, dan

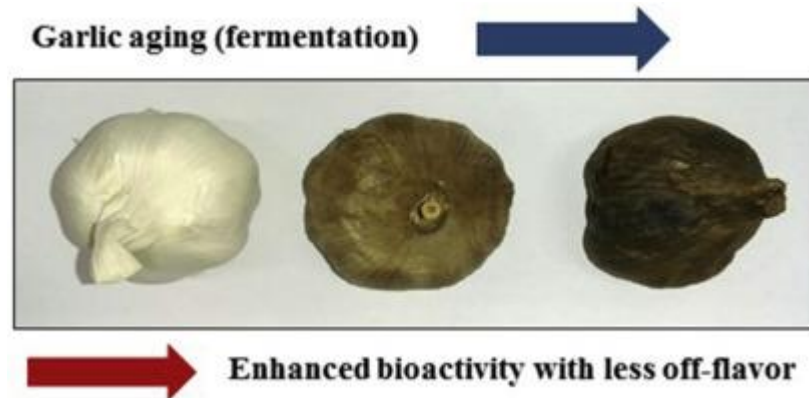
meningkatkan aktivitas fibrinolisis, membuktikan manfaat kardioproteksinya (Chan *et al.*, 2013). Bawang putih telah dibuktikan dapat menurunkan kerusakan sel pankreas, stres oksidatif, dan perubahan patologis pada diabetes tipe 1 pada tikus yang diinduksi streptomisin (Kaur *et al.*, 2016).

2.6 *Aged Black Garlic*

Aged black garlic adalah produk pemanasan dari bawang putih pada suhu 70°C dengan kelembaban relatif 70-80% selama 30-40 hari tanpa perlakuan tambahan apapun (X. Wang *et al.*, 2012). *Aged black garlic* memiliki warna hitam, ringan karena kandungan bahan keringnya rendah, dan mempunyai aroma serta rasa yang tidak terlalu menyengat. Hal ini disebabkan karena terjadi transformasi *alliin* menjadi *allicin* sebagai inaktivasi panas *alliinase* (Nelwida, Berliana, dan Nurhayati, 2019).



Gambar 7. Perbedaan penampilan bawang putih segar dengan *aged black garlic* (Ryu dan Kang, 2017)



Gambar 8. *Aged black garlic* sebagai hasil dari fermentasi bawang putih segar (Kimura *et al.*, 2017)

2.6.1 Komponen Bioaktif

Aged black garlic mengandung lebih banyak kadar *S-allylcysteine* dan polifenol dibandingkan dengan bawang putih segar biasa (Nencini *et al.*, 2011). *Aged black garlic* kaya akan senyawa flavonoid, piruvat, dan fenol, tetapi memiliki kandungan *allicin* yang jauh lebih sedikit dibandingkan dengan bawang putih segar (Bae *et al.*, 2014).

Dikutip dari Shin *et al.* (2014), ditemukan bahwa kandungan senyawa yang bertanggungjawab atas aktivitas antioksidan pada *aged black garlic*, seperti piruvat dan *S-allylcysteine* (SAC) mengalami peningkatan selama proses fermentasi. Kadar *S-allylcysteine* pada *aged black garlic* meningkat empat sampai delapan kali lipat selama proses fermentasi dibandingkan dengan bawang putih segar. Banyaknya kadar *S-allylcysteine* dipengaruhi oleh lamanya proses fermentasi dibandingkan dengan tingginya suhu, di mana kadarnya akan meningkat bila difermentasi lebih lama tetapi kadarnya akan menurun bila suhu pemanasannya ditingkatkan (Bae *et al.*, 2014).

Konsentrasi gula bebas dan mineral yang meningkat pada *aged black garlic*, terutama fruktosa, memberi rasa yang sedikit manis pada *aged black garlic*. Asam amino bebas ditemukan pada *aged black garlic* namun belum ada studi yang membandingkan kadar asam amino bebas antara *aged black garlic* dan bawang putih bebas (Ryu dan Kang, 2017).

2.6.2 Manfaat Terapeutik

Komponen antioksidan khas pada *aged black garlic* adalah fenol dan flavonoid (Jang *et al.*, 2018). Piruvat merupakan molekul antioksidan utama yang jumlah kadarnya berlimpah di *aged black garlic* (Jeong *et al.*, 2016). Konsentrasi piruvat pada *aged black garlic* lebih tinggi dibandingkan dengan bawang putih segar. Piruvat pada *aged black garlic* dapat menurunkan kadar ROS pada sel RAW264.7 yang diinduksi H₂O₂ serta peroksidasi lipid pada sel hepatosit tikus yang diinduksi *tert-butyl-hydroperoxide* (Jeong *et al.*, 2016).

Pada *aged black garlic* juga ditemukan bahwa senyawa AGE-1 memiliki efek yang signifikan terhadap faktor-faktor inflamasi dan memiliki potensi untuk dijadikan agen anti-inflamasi terapeutik (Kim *et al.*, 2017). Yoo *et al.* (2014) juga menemukan bahwa *aged black garlic* memiliki aktivitas antiseptik dan antialergi, terutama pada fraksinya BG10. Fraksi BG10 pada *black garlic* memiliki aktivitas antioksidan yang kuat serta berperan sebagai antidermatitis dengan cara menghambat makrofag yang teraktivasi. Efek tersebut

berhubungan dengan penghambatan pembentukan mediator inflamasi seperti NO, TNF- α , IL-6 dan PG-E2. Efek penghambatan mediator inflamasi oleh BG10 berhubungan erat dengan penghambatan langsung dari pembentukan iNOS, COX-2 dan NF- κ B (You *et al.*, 2019).

2.7 Tikus

Suku tikus-tikusan atau *Muridae* adalah salah satu famili hewan pengerat dari ordo Rodentia. Spesies tikus yang paling dikenal adalah mencit (*Mus musculus*) dan tikus got (*Rattus norvegicus*). Tikus putih (*Rattus norvegicus*) banyak digunakan sebagai hewan percobaan pada berbagai penelitian. Keunggulan dari tikus putih sebagai hewan coba antara lain tubuhnya kecil sehingga mudah dalam penanganan dan pemeliharaannya, sehat dan bersih, serta kemampuan reproduksi tinggi dengan masa kebuntingan singkat. Terdapat tiga galur tikus putih yang memiliki kekhususan untuk digunakan sebagai hewan percobaan, antara lain *Wistar*, *Long Evans* dan *Sprague-dawley* (Sengupta, 2013).

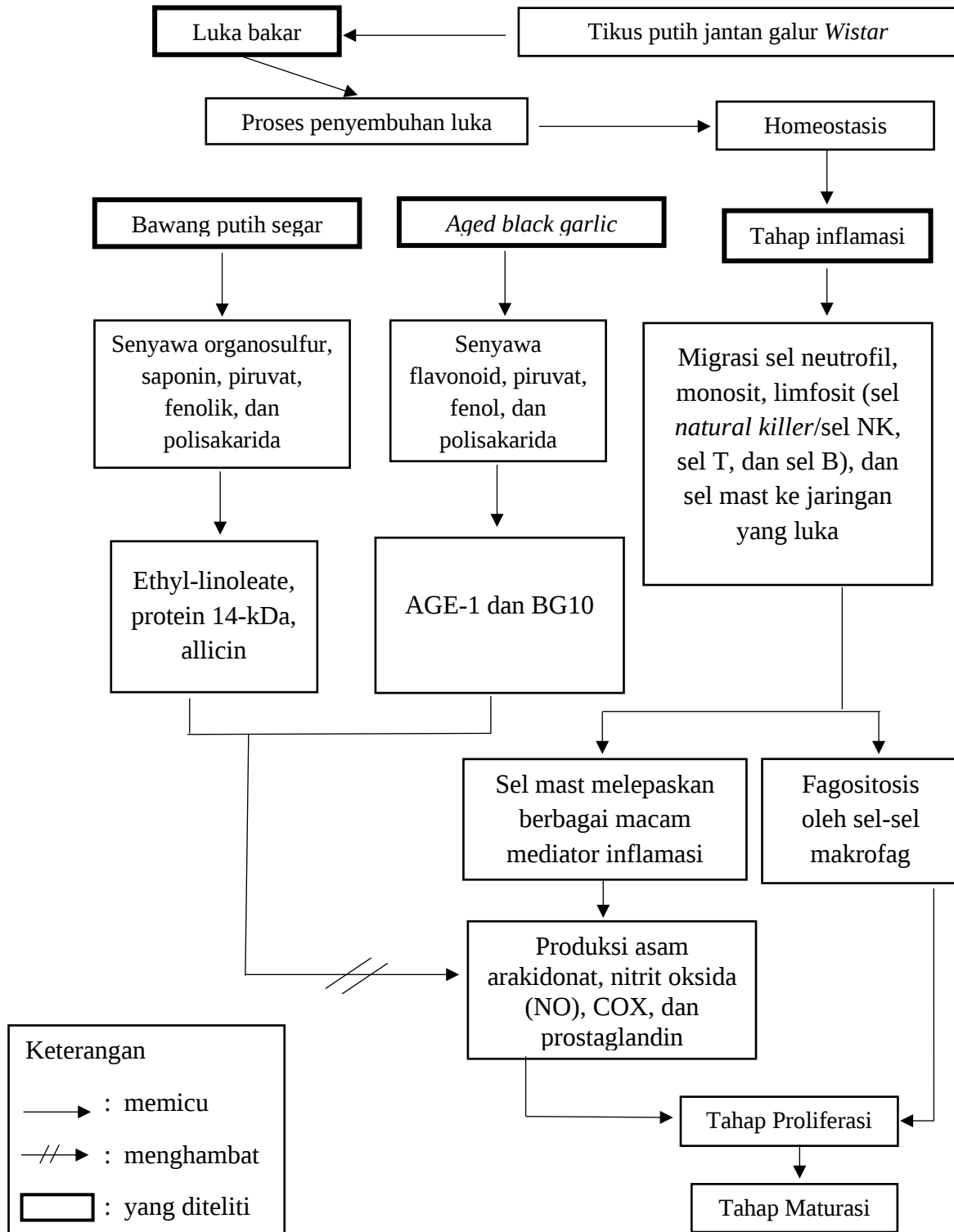


Gambar 9. Tikus putih galur *Wistar*

Menurut Hedrich (2019), klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut.

Kerajaan	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Superfamili	: Muroidea
Famili	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

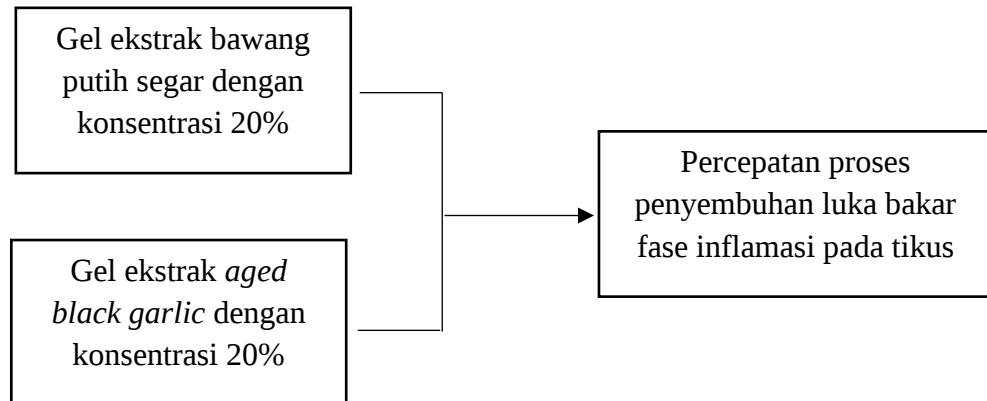
2.8 Kerangka Teori



Gambar 10. Kerangka Teori

Sumber: Shin *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2017; Yoo *et al.*, 2014; You *et al.*, 2019; Robb *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2017; Turner *et al.*, 2017

2.9 Kerangka Konsep



Gambar 11. Kerangka Konsep

2.10 Hipotesis

- H0 : 1. Tidak terdapat efek pemberian gel ekstrak bawang putih segar terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar.
2. Tidak terdapat efek pemberian gel ekstrak *aged black garlic* terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar.
3. Tidak terdapat perbedaan antara efek pemberian gel ekstrak bawang putih segar dengan gel ekstrak *aged black garlic* terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar.
- H1 : 1. Terdapat efek pemberian gel ekstrak bawang putih segar terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar.

2. Terdapat efek pemberian gel ekstrak *aged black garlic* terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar.
3. Terdapat perbedaan antara efek pemberian gel ekstrak bawang putih segar dengan gel ekstrak *aged black garlic* terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode *true experimental* dengan pola *post-test only control group design*.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2021 selama 7 hari.

3.2.2 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, determinasi simplisia dilakukan di Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung, serta pembuatan ekstrak bawang putih segar dan ekstrak *aged black garlic* dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Penelitian ini menggunakan tikus putih *Rattus norvegicus* jantan galur *Wistar* berusia 2-3 bulan yang diperoleh dari Palembang Tikus Center.

3.3.2 Sampel

Banyaknya jumlah sampel ditentukan dengan menggunakan rumus Frederer.

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

Dimana t merupakan jumlah kelompok percobaan dan n merupakan jumlah pengulangan atau jumlah sampel tiap kelompok (Ridwan, 2013). Penelitian ini menggunakan 3 kelompok perlakuan sehingga perhitungan sampel menjadi:

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

$$2(n-1) \geq 15$$

$$2n-2 \geq 15$$

$$2n \geq 17$$

$$n = 8,5$$

$$n \sim 9$$

Untuk mengantisipasi adanya kriteria eksklusi, maka dilakukan koreksi dengan menambahkan sampel dengan rumus:

$$N = n / (1-f)$$

Keterangan:

N = besar sampel koreksi

n = besar sampel awal

f = perkiraan proporsi drop out sebanyak 10% maka jumlah sampel koreksi yang ditambahkan pada penelitian ini yaitu:

$$N = n / (1-f)$$

$$N = 9 / (1-10\%)$$

$$N = 9 / (1- 0,1)$$

$$N = 9 / 0,9$$

$$N = 10$$

Jadi, keseluruhan sampel yang akan digunakan pada penelitian ini adalah 30 ekor tikus yang dibagi ke dalam 3 kelompok sehingga setiap kelompok berisi 10 ekor tikus dengan 1 ekor tikus sebagai cadangan atau koreksi jika terdapat kriteria eksklusi.

3.3.3 Kelompok Perlakuan

Tikus sebanyak 30 ekor, dikelompokkan dalam 3 kelompok. Keseluruhan kelompok diberi luka bakar daerah dorsal sekitar 3 cm dari *auris* dengan menggunakan plat besi ukuran 2x2 cm yang sudah dipanaskan di api. Kelompok kontrol (K) dibersihkan dengan NaCl 0,9% saja kemudian ditutup dengan kassa steril sebanyak 1x sehari selama 7 hari (Negara *et al.*, 2014). Kelompok perlakuan 1 (P1) diberi

gel ekstrak bawang putih segar 20% kemudian ditutup dengan kassa steril sebanyak 1x sehari selama 7 hari. Kelompok perlakuan 2 (P2) diberi gel ekstrak *aged black garlic* 20% kemudian ditutup dengan kassa steril sebanyak 1x sehari selama 7 hari. Setelah itu, luka pada kedua kelompok perlakuan ditutup dengan kassa steril.

Tabel 3. Kelompok Perlakuan

No.	Kelompok	Perlakuan
1.	Kelompok Kontrol (K)	Kelompok kontrol (K) diberi luka bakar daerah dorsal sekitar 3 cm dari <i>auris</i> , hanya dibersihkan dengan NaCl 0,9% kemudian ditutup dengan kassa steril sebanyak 1x sehari selama 7 hari.
2.	Kelompok Perlakuan 1 (P1)	Kelompok yang diberi luka bakar daerah dorsal sekitar 3 cm dari <i>auris</i> dan diikuti dengan pemberian gel ekstrak bawang putih segar 20% kemudian ditutup dengan kassa steril sebanyak 1x sehari selama 7 hari
3.	Kelompok Perlakuan 2 (P2)	Kelompok yang diberi luka bakar daerah dorsal sekitar 3 cm dari <i>auris</i> dan diikuti dengan pemberian gel ekstrak <i>aged black garlic</i> 20% kemudian ditutup dengan kassa steril sebanyak 1x sehari selama 7 hari

3.3.4 Teknik Sampling

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

3.4 Kriteria Penelitian

3.4.1 Kriteria Inklusi

Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang memiliki berat badan normal (100-150 gram), berusia 2-3 bulan sebelum dilakukan adaptasi lingkungan, pada pengamatan visual tampak sehat dan bergerak aktif, serta tidak terdapat kelainan anatomis.

3.4.2 Kriteria Eksklusi

Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang memiliki luka sampai otot atau tulang baik sebelum maupun sesudah perlakuan, sakit (penampakan rambut kusam, rontok atau botak dan aktivitas kurang atau tidak aktif, keluarnya eksudat yang tidak normal dari mata, mulut, anus serta genital), terdapat penurunan berat badan secara drastis lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium, dan mati selama masa perlakuan.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat-alat yang Digunakan

- a. Kandang hewan coba
- b. Timbangan digital
- c. Pisau cukur
- d. Handschoen
- e. Plat besi berukuran 2 x 2 cm
- f. Kassa steril
- g. Perban non-woven
- h. Jangka sorong
- i. Neraca analitik
- j. Pipet
- k. Gelas ukur *pyrex*
- l. Spatula
- m. Pengaduk
- n. *Stirrer*
- o. Corong büchner
- p. *Rotary evaporator*
- q. *Water bath*

3.5.2 Bahan-bahan yang Digunakan

- a. Pakan hewan berupa pellet
- b. Bawang putih segar
- c. *Aged black garlic*

- d. Etanol 96%
- e. Propilenglikol
- f. Gliserin
- g. CMC-Na
- h. Alkohol 70%
- i. *Aquadest*
- j. Krim lidokain 2,5% dan prilokain 2,5%

3.6 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional

3.6.1 Identifikasi Variabel

3.6.1.1 Variabel Independen

Variabel independen atau variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian gel ekstrak bawang putih segar dan gel ekstrak *aged black garlic* secara topikal sebanyak satu kali sehari selama tujuh hari.

3.6.1.2 Variabel Dependen

Variabel dependen atau variabel terikat pada penelitian ini adalah proses penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi.

3.6.2 Definisi Operasional

Untuk memudahkan penjelasan dan memperlihatkan variabel-variabel yang terlibat dalam penelitian ini, maka diberikan definisi operasional sebagai berikut:

Tabel 4. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Variabel Independen				
Gel ekstrak bawang putih segar	Gel ekstrak etanol bawang putih segar dan dibuat menjadi konsentrasi 20% dalam kemasan gel 10 gram sebanyak 1x/hari selama 7 hari.	Lembar observasi	1: Kontrol 2: Gel ekstrak bawang putih segar 3: Gel ekstrak <i>aged black garlic</i>	Kategorik (Nominal)
Gel ekstrak <i>aged black garlic</i>	Gel ekstrak etanol <i>aged black garlic</i> dibuat menjadi konsentrasi 20% dalam kemasan gel 10 gram sebanyak 1x/hari selama 7 hari.	Lembar observasi	1: Kontrol 2: Gel ekstrak bawang putih segar 3: Gel ekstrak <i>aged black garlic</i>	Kategorik (Nominal)
Variabel Dependen				
Proses penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi	Proses penyembuhan jaringan luka bakar derajat II fase inflamasi	Rerata skor pada instrumen <i>Wound assessment</i> Bates-Jensen	Masing-masing poin memperoleh skor 1-5, dengan total skor terendah sebanyak 13 dan tertinggi sebanyak 65, di mana semakin rendah total skor pada keseluruhan poin menunjukkan semakin baiknya status penyembuhan luka.	Numerik (Rasio)

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Prosedur Penelitian

3.7.1.1 Adaptasi Tikus

Tikus sebanyak 30 ekor dibagi atas 3 kelompok diadaptasi selama 1 minggu di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan dilakukan penimbangan serta penandaan untuk menentukan perlakuan perkelompok. Tikus

diberi makan sesuai 10% berat badan, yaitu sekitar 2-3 gram/ekor/hari. Pakan diberikan pada pagi hari pukul 07.00 dan sore hari pukul 16.00. Pemberian air minum diberikan secara *ad libitum*. Kebersihan kandang dilakukan dengan cara penggantian sekam setiap 3 hari (Widiartini, Siswati, Setiyawati, Rohmah, dan Prasetyo, 2013).

3.7.1.2 Pemeriksaan Simplisia (Determinasi)

Sebelum dilakukan penelitian, bawang putih segar (*Allium sativum* L.) terlebih dahulu dideterminasi di Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3.7.1.3 Penyiapan Simplisia

Simplisia bawang putih segar (*Allium sativum* L.) varian lanang diperoleh dari CV Agro Pangan Lestari dan simplisia *aged black garlic* varian lanang diperoleh dari Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) Puspiptek Serpong. Selanjutnya dilakukan sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, dan penyerbukan bawang putih segar dan *aged black garlic*. Serbuk simplisia disimpan dalam wadah yang kering, tertutup rapat, dan terlindung dari cahaya.

3.7.1.4 Ekstraksi Bawang Putih Segar dan *Aged Black Garlic*

Serbuk simplisia bawang putih segar dan *aged black garlic* masing-masing ditimbang sebanyak 1.000 gram kemudian ekstraksi dengan metode maserasi dilakukan dengan pelarut etanol 96% sebanyak 7,5 liter (1:7,5) selanjutnya di rendam dan diaduk terus dengan *stirrer*, setelah itu didiamkan selama 3x24 jam (Santi, 2013). Penyaringan dilakukan pada maserat dengan corong büchner dengan bantuan vakum (Karina, 2013). Seluruh maserat dikumpulkan dan dilakukan pemekatan maserat dengan penguapan menggunakan *rotary evaporator* setelah pelarut tidak menetes dilanjutkan pemekatan dengan *water bath* hingga diperoleh ekstrak kental. Rendemen yang diperoleh ditimbang dan dicatat.

3.7.1.5 Pembuatan Gel

Pembuatan gel ekstrak bawang putih segar dan gel ekstrak *aged black garlic* adalah dengan cara menambahkan ekstrak bawang putih segar dan *aged black garlic* dengan propilenglikol, gliserin, CMC-Na dan *aquadest* (Kurniawan dan Layal, 2017). Gel ekstrak bawang putih segar dan *aged black garlic* masing-masing dibuat menjadi konsentrasi 20% mengikuti penelitian Mufimah, Hidayat, dan Budiharto. (2018) yang mendapatkan bahwa konsentrasi efektif untuk aktivitas anti-inflamasi gel ekstrak bawang putih adalah pada konsentrasi 20%. Komposisi gel dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5 . Komposisi gel ekstrak bawang putih segar dan *aged black garlic*

Bahan	Konsentrasi 20% (gr)
CMC-Na	0,5
Propilenglikol	0,5
Gliserin	1
<i>Aquadest</i>	10
Ekstrak bawang putih segar	2
Ekstrak <i>aged black garlic</i>	2

3.7.1.6 Perlukaan Hewan Coba

Sebelumnya dilakukan pencukuran dengan menggunakan pisau cukur pada punggung lalu kemudian dilakukan disinfeksi dengan etanol 70%. Selanjutnya menganestesi tikus dengan menggunakan krim topikal lidokain 2,5% dan prilokain 2,5% untuk selanjutnya dibuat luka bakar menggunakan plat besi berukuran 2 x 2 cm selama 10 detik yang telah dipanaskan pada api selama 5 menit di kulit tikus daerah dorsal sekitar 3 cm dari *auris* (Akhoondinasab, Akhoondinasab, dan Saberi, 2014). Kemudian luka dikompres dengan *aquadest* selama 1 menit (Negara et al., 2014).

3.7.1.7 Perawatan dan Pengukuran Penutupan Luka Bakar

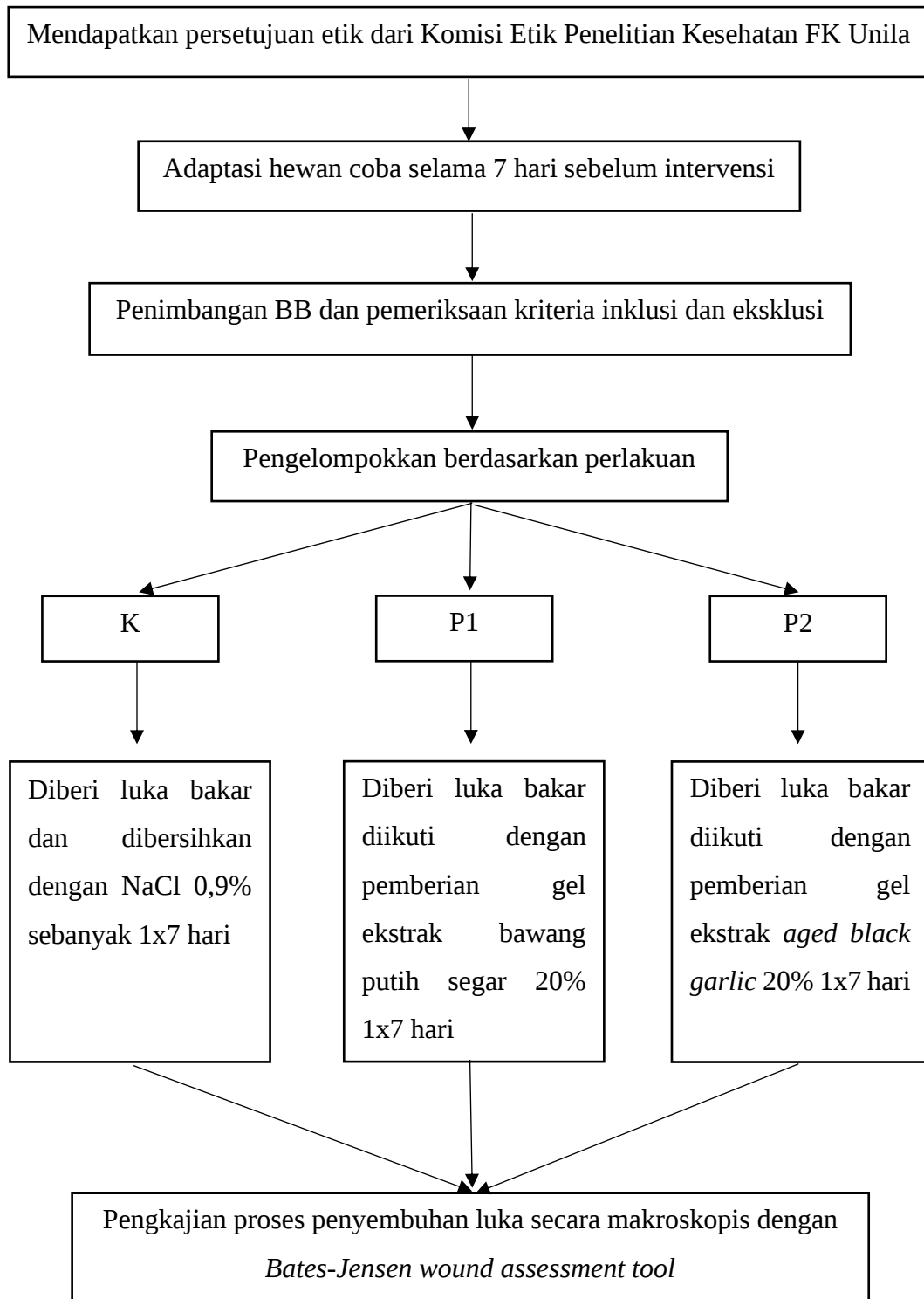
Perawatan dan pengukuran dilakukan dengan membersihkan luka bakar terlebih dahulu dengan NaCl 0,9% lalu

dikeringkan, kemudian mengukur luka bakar menggunakan jangka sorong dengan cara vertikal dan horizontal. Selanjutnya mengoleskan kembali gel ekstrak berdasarkan perlakuan yang diberikan. Perawatan luka diberikan satu kali sehari (Samsudin dan Arimurti, 2018). Perlakuan dilakukan selama 7 hari sesuai dengan rerata lama fase inflamasi luka akut (Strudwick dan Cowin, 2017).

3.7.1.8 Pengkajian Luka

Penilaian proses penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi menggunakan rerata skoring instrumen pengkajian luka Bates-Jensen (*Bates-Jensen wound assesment tool*) mengikuti penelitian Glik *et al.* (2017). Instrumen pengkajian luka Bates-Jensen terdiri atas 13 poin penilaian dengan masing-masing skor bernilai 1-5 dengan total skor terendah berjumlah 13 dan terbanyak 65, merujuk bahwa semakin kecil total skor maka semakin baik status penyembuhan luka.

3.7.2 Alur Penelitian



Gambar 12. Alur Penelitian

3.8 Analisis Data

Semua hasil pemeriksaan dan penghitungan dicatat, kemudian dianalisis dengan menggunakan *SPSS 26 for Windows*. Normalitas data diuji dengan menggunakan *Shapiro-Wilk* karena pada penelitian ini jumlah sampel sebanyak ≤ 50 , kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas *Levene's test* untuk mengetahui apakah dua atau lebih varian kelompok data mempunyai varian yang sama atau tidak.

Bila syaratnya sudah terpenuhi dan kurva distribusi data normal, dilakukan uji beda. Data yang normal dianalisis secara parametrik dengan menggunakan uji *One-Way ANOVA* sedangkan untuk data yang tidak normal dianalisis secara non-parametrik dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis*. Hipotesis dapat dikatakan diterima ketika nilai $p < 0,05$. Selanjutnya, dilakukan uji Posthoc dengan uji *Tukey HSD* untuk distribusi data yang normal atau uji *Mann Whitney* untuk distribusi data yang tidak normal untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan.

3.9 Etika Penelitian

Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor surat 244/UN.26.18/PP.05.02.00/2021.

Penelitian kesehatan yang menggunakan model hewan menyepakati bahwa hewan coba yang menderita dan mati untuk kepentingan manusia perlu dijamin kesejahteraannya dan diperlukan secara manusiawi. Dalam penelitian

kesehatan yang memanfaatkan hewan coba, juga harus diterapkan prinsip 3R data protokol penelitian, yaitu replacement, reduction dan refinement.

1. *Replacement*, adalah keperluan memanfaatkan hewan percobaan sudah diperhitungkan secara seksama, baik dari pengalaman terdahulu maupun literatur untuk menjawab pertanyaan penelitian dan tidak dapat digantikan oleh sel atau biakan jaringan (Ridwan, 2013).
2. *Reduction*, adalah pemanfaatan hewan dalam penelitian sesedikit mungkin, tetapi tetap mendapatkan hasil yang optimal. Pengurangan jumlah penggunaan hewan coba dilakukan sampai pada batas jumlah yang masih bisa dianalisis secara statistik. (Ridwan, 2013).
3. *Refinement*, adalah memperlakukan hewan percobaan secara manusiawi, dengan prinsip dasar membebaskan hewan coba dalam beberapa kondisi (Ridwan, 2013).
 1. Bebas dari rasa lapar dan haus, pada penelitian ini hewan coba diberikan pakan standar dan minum secara *ad libitum*.
 2. Bebas dari ketidaknyamanan, pada penelitian hewan coba ditempatkan di *animal house* dengan suhu terjaga 20-25°C, kemudian hewan coba terbagi menjadi 4 ekor tiap kandang. *Animal house* berada jauh dari gangguan bising dan aktivitas manusia serta kandang dijaga kebersihannya.
 3. Bebas dari nyeri dan penyakit dengan menjalankan program kesehatan, pencegahan, dan pemantauan, serta pengobatan terhadap hewan percobaan jika diperlukan. Pada penelitian ini, hewan coba

diberikan anestesi berupa krim lidokain 2,5% dan prilokain 2,5% sebelum diberikan luka bakar pada punggungnya.

4. Bebas dari stres, dengan memberikan waktu adaptasi selama 1 minggu sebelum dilakukan perlakuan.

3.10 Dummy Table

Tabel 6. Hasil skoring pengamatan penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar

No.	Skoring <i>Bates-Jensen Wound Assessment</i>	Kelompok Perlakuan		
	Tool (skor 1-5)	K	P1	P2
1.	Ukuran luka			
2.	Kedalaman luka			
3.	Tepi luka			
4.	Goa			
5.	Tipe jaringan nekrosis			
6.	Jumlah jaringan nekrosis			
7.	Tipe eksudat			
8.	Jumlah eksudat			
9.	Warna kulit di sekitar luka			
10.	Jaringan yang edema			
11.	Pengerasan jaringan tepi			
12.	Jaringan granulasi			
13.	Epitelisasi			
Σ Skor				

Tabel 7. Uji *One-Way* ANOVA setiap kelompok perlakuan

No.	Kelompok Perlakuan	Uji ANOVA
1.	Kelompok Kontrol (K)	
2.	Kelompok Perlakuan 1 (P1)	
3.	Kelompok Perlakuan 2 (P2)	

Tabel 8. Uji Posthoc setiap kelompok perlakuan

No.	Kelompok	K	P1	P2
1.	K			
2.	P1			
3.	P2			

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

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

1. Terdapat efek pemberian gel ekstrak bawang putih segar terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar.
2. Terdapat efek pemberian gel ekstrak *aged black garlic* terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar.
3. Terdapat perbedaan antara efek pemberian gel ekstrak bawang putih segar dengan gel ekstrak *aged black garlic* terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat II fase inflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar.

5.2 Saran

1. Diharapkan penelitian selanjutnya dapat mengaplikasikan hasil penelitian ini dengan mengganti jenis luka yang diamati, seperti luka sayat.

2. Diharapkan penelitian selanjutnya dapat menguji konsentrasi efektif dari dosis bertingkat ekstrak *aged black garlic* terhadap luka bakar derajat II.
3. Diharapkan penelitian selanjutnya dapat melakukan penelitian dari segi mikroskopis perbandingan efek pemberian gel ekstrak bawang putih segar dan gel ekstrak *aged black garlic* terhadap pada luka bakar derajat II fase inflamasi.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Adhya A, Bain J, Ray O, Hazra A, Adhikari S, Dutta G, Ray S, Majumdar B. 2014. Healing of burn wounds by topical treatment: A randomized controlled comparison between silver sulfadiazine and nano-crystalline silver. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*. 6(1): 29–34. <https://doi.org/10.4103/0976-0105.145776>.
- Akhoondinasab MR, Akhoondinasab M, Saberi M. 2014. Comparison of healing effect of Aloe vera extract and Silver Sulfadiazine in burn injuries in experimental rat model. *World Journal of Plastic Surgery*. 3(1): 29–34.
- Alfaro, D. 2019. What is Garlic?
- Alvareng MB, Francisco AA, de Oliveira SMJV, da Silva FMB, Shimoda GT, Damiani LP. 2015. Episiotomy healing assesment: Redness, Oedema, Ecchymosis, Discharge, Approximation (REEDA) scale reliability. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*. 23(1): 162–168. <https://doi.org/10.1590/0104-1169.3633.2538>
- Bae SE, Chob SY, Won YD, Lee SH, Park HJ. 2014. Changes in s-allyl cysteine contents and physicochemical properties of black garlic during heat treatment. *LWT - Food Science and Technology*. 55(1): 397–402. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.006>
- Bayan L, Koulivand PH, Gorji A. 2014. Garlic: A review of potential therapeutic effects. *Avicenna Journal of Phytomedicine*. 4(1): 1–14.
- Bestari ZA, Saraswati I, Adespin DA. 2016. Pengaruh Bawang Putih (*Allium sativum* L.) terhadap Penyembuhan Luka Bakar Derajat II Dangkal pada Tikus Wistar. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. 5(4): 1955–1961.
- Boonpeng S, Siripongvutikorn S, Sae-Wong C, Sutthirak P. 2014. The antioxidant and anti-cadmium toxicity properties of garlic extracts. *Food Science & Nutrition*. 2(6): 792–801. <https://doi.org/10.1002/fsn3.164>
- Borlinghaus J, Albrecht F, Gruhlke MCH, Nwachukwu ID, Slusarenko AJ. 2014. Allicin: Chemistry and biological properties. *Molecules*. 19(8): 12591–12618. <https://doi.org/10.3390/molecules190812591>
- Bounds EJ, Kok SJ. 2020. Electrical Burns. Florida: StatPearls Publishing LLC.

- Bradley JM, Organ CL, Lefer DJ. 2016. Garlic-derived organic polysulfides and myocardial protection. *The Journal of Nutrition*. 146(2): 403S–409S. <https://doi.org/10.3945/jn.114.208066>
- Brunicaudi C. 2010. Burns. In *Schwartz's Principles of Surgery* (9th ed.). Pennsylvania: McGraw-Hill Medical.
- Chan JYY, Yuen ACY, Chan RYK, Chan SW. 2013. A review of the cardiovascular benefits and antioxidant properties of allicin. *Phytotherapy Research*. 27(5): 637–646. <https://doi.org/10.1002/ptr.4796>
- Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, Li Y, Wang X, Zhao L. 2017. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*. 9(6): 7204–7218. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208>
- Ciaccia L. 2011. Fundamentals of Inflammation. *Yale J Biol Med*. 84(1): 64–65.
- D'Avignon LC, Hogan BK, Murray CK, Loo FL, Hospenthal DR, Cancio LC, Kim SH, Renz EM, Barillo D, Holcomb JB, Wade CE, Wolf SE. 2010. Contribution of bacterial and viral infections to attributable mortality in patients with severe burns: An autopsy series. *Burns*. 36(6): 773–779. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2009.11.007>
- Das UN. 2015. Sucrose, fructose, glucose, and their link to metabolic syndrome and cancer. *Nutrition*. 31(1): 249–257. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2014.05.015>
- Diretto G, Rubio-Moraga A, Argandona J, Castillo P, Gómez-Gómez L, Ahrazem O. 2017. Tissue-specific accumulation of sulfur compounds and saponins in different parts of garlic cloves from purple and white ecotypes. *Molecules*. 22(8): 1359. <https://doi.org/10.3390/molecules22081359>
- Dkhil MA, Abdel-Baki AS, Wunderlich F, Sies H, Al-Quraishy S. 2010. Anticoccidial and antiinflammatory activity of garlic in murine *Eimeria papillata* infections. *Veterinary Parasitology*. 175(1–2): 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.09.009>
- Eroschenko VP. 2013. Atlas Histologi di Fiore dengan Korelasi Fungsional (Suyono YJ, Mulyadi CK, Rughwani NR, Nitihardjo KC, Reztaputra R, penyunting. Edisi ke-12. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Fitriana RN. 2014. Hubungan self efficacy dengan tingkat pengetahuan ibu dalam penanganan pertama luka bakar pada anak usia prasekolah di Desa Jombor Bendosari Sukoharjo. *Keperawatan STIKES Kusuma Husada Surakarta*. 83: 1–8.

- Gartner LP, Hiatt JL. 2013. Color Atlas and Text of Histology. Edisi ke-6. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Glik J, Kawecki M, Kitala D, Nowak M, Misiuga M, Kasperczyk A. 2017. A new option for definitive burn wound closure – pair matching type of retrospective case – control study of hand burns in the hospitalised patients group in the Dr Stanislaw Sakiel Centre for Burn Treatment between 2009 and 2015. *International Wound Journal*. 14(5): 849–855. <https://doi.org/10.1111/iwj.12720>
- Guo YJ. 2014. Experimental study on the optimization of extraction process of garlic oil and its antibacterial effects. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. 11(2): 411–414. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v11i2.27>
- Gurtner GC. 2014. Wound Healing: Normal and Abnormal. Dalam: Thorne CH, Chung KC, Gosain AK, Gurtner GC, Mehrara BJ, Rubin JP, Spear SL, penyunting. *Grabb and Smith's Plastic Surgery*. Edisi ke-6. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. hlm. 15-22
- Hayat S, Cheng Z, Ahmad H, Ali M, Chen X, Wang M. 2016. Garlic, from remedy to stimulant: Evaluation of antifungal potential reveals diversity in phytoalexin allicin content among garlic cultivars; allicin containing aqueous garlic extracts trigger antioxidants. *Frontiers in Plant Science*. 7: 1235. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01235>
- Hedrich HJ. 2019. Chapter 2: Taxonomy and stocks and strains. Dalam: *The Laboratory Rat*. Edisi ke-3. Massachusetts: Elsevier. hlm. 47–75. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814338-4.00002-7>
- Herndon DN. 2012. Chapter 3: Epidemiological, demographic, and outcome characteristics of burn injury. Dalam: Herndon DN, penyunting. *Total Burn Care*. Edisi ke-4. Philadelphia: Saunders. hlm. 23
- Hwang IG, Kim HY, Woo KS, Lee J, Jeong HS. 2011. Biological activities of Maillard reaction products (MRPs) in a sugar-amino acid model system. *Food Chemistry*. 126(1): 221–227. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.103>
- Jameel F, Phang M, Wood LG, Garg ML. 2014. Acute effects of feeding fructose, glucose and sucrose on blood lipid levels and systemic inflammation. *Lipids in Health and Disease*. 13(1): <https://doi.org/10.1186/1476-511X-13-195>
- Jang HJ, Lee HJ, Yoon DK, Ji DS, Kim JH, Lee CH. 2018. Antioxidant and antimicrobial activities of fresh garlic and aged garlic by-products extracted with different solvents. *Food Science and Biotechnology*. 27(1): 219–225. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0246-4>

- Jeong YY, Ryu JH, Shin J, Kang MJ, Kang JR. 2016. Comparison of anti-oxidant and anti-inflammatory effects between fresh and aged black garlic extracts. *Molecules*. 21(4): 430–444. <https://doi.org/10.3390/molecules21040430>
- Jeschke MG, Gauglitz GG, Kulp GA, Finnerty CC, Williams FN, Kraft R, Suman OE, Mlcak RP, Herndon DN. 2011. Long-term persistence of the pathophysiologic response to severe burn injury. *PLoS ONE*. 6(7): <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021245>
- Jones SW, Williams FN, Cairns BA, Cartotto R. 2017. Inhalation Injury: Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment. *Clinics in Plastic Surgery*. 44(3): 505–511. <https://doi.org/10.1016/j.cps.2017.02.009>
- Kaddoura I, Abu-Sittah G, Ibrahim A, Karamanoukian R, Papazian N. 2017. Burn injury: review of pathophysiology and therapeutic modalities in major burns. *Annals of Burns and Fire Disasters*. 30(2): 95–102.
- Kang OJ. 2016. Physicochemical characteristics of black garlic after different thermal processing steps. *Preventive Nutrition and Food Science*. 21(4): 348–354. <https://doi.org/10.3746/pnf.2016.21.4.348>
- Karina R. 2013. Pengaruh Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* Secara in Vitro [skripsi]. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Kaur G, Padiya R, Adela R, Putcha UK, Reddy GS, Reddy BR, Kumar KP, Chakravarty S, Banerjee SK. 2016. Garlic and resveratrol attenuate diabetic complications, loss of cells, pancreatic and hepatic oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Frontiers in Pharmacology*. 7: 360.
- Kementerian Kesehatan RI. 2013. Riset Kesehatan Dasar; RISKESDAS. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI.
- Kim DG, Kang MJ, Hong SS, Choi YH, Shin JH. 2017. Antiinflammatory Effects of Functionally Active Compounds Isolated from Aged Black Garlic. *Phytotherapy Research*. 31(1): 53–61. <https://doi.org/10.1002/ptr.5726>
- Kim MJ, Yoo YC, Kim HJ, Shin SK, Sohn EJ, Min AY, Sung NY, Kim MR. 2014. Aged black garlic exerts anti-inflammatory effects by decreasing NO and proinflammatory cytokine production with less cytotoxicity in LPS-stimulated raw 264.7 macrophages and LPS-induced septicemia mice. *Journal of Medicinal Food*. 17(10): 1057–1106. <https://doi.org/doi.org/10.1089/jmf.2013.3043>
- Kimura S, Tung YC, Pan MH, Su NW, Lai YJ, Cheng KC. 2017. Black garlic: A

- critical review of its production, bioactivity, and application. *Journal of Food and Drug Analysis*. 25(1): 62–70. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.11.003>
- Kodera Y, Ushijima M, Amano H, Suzuki JI, Matsutomo T. 2017. Chemical and biological properties of S-1-propenyl-L-cysteine in aged garlic extract. *Molecules*. 22(4): 570. <https://doi.org/10.3390/molecules22040570>
- Kurniawan Y, Loyal K. 2017. Pemberian Gel Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Dapat Mempercepat Proses Penyembuhan Luka Bakar pada Mencit. *Syifa' MEDIKA*. 8(1): 30–36.
- Lee DY, Li H, Lim HJ, Lee HJ, Jeon R, Ryu JH. 2012. Anti-inflammatory activity of sulfur-containing compounds from garlic. *Journal of Medicinal Food*. 15(11): 992–999. <https://doi.org/10.1089/jmf.2012.2275>
- Lee EN, Choi YW, Kim HK, Park JK, Kim HJ, Kim MJ, Lee HW, Kim KH, Bae SS, Kim BS, Yoon, S. 2011. Chloroform extract of aged black garlic attenuates TNF- α -induced ROS generation, VCAM-1 expression, NF- κ B activation and adhesiveness for monocytes in human umbilical vein endothelial cells. *Phytotherapy Research*. 25(1): 92–100. <https://doi.org/doi.org/10.1002/ptr.3230>
- Lee HS, Lim WC, Lee SJ, Lee SH, Lee JH, Cho HY. 2016. Antiobesity effect of garlic extract fermented by *Lactobacillus plantarum* BL2 in diet-induced obese mice. *Journal of Medicinal Food*. 19(9): 823–829. <https://doi.org/10.1089/jmf.2016.3674>
- Li WR, Shi QS, Dai HQ, Liang Q, Xie XB, Huang XM, Zhao GZ, Zhang LX. 2016. Antifungal activity, kinetics and molecular mechanism of action of garlic oil against *Candida albicans*. *Scientific Reports*. 6: 22805. <https://doi.org/10.1038/srep22805>
- Li WR, Shi QS, Liang Q, Huang XM, Chen Y. 2014. Antifungal effect and mechanism of garlic oil on *penicillium funiculosum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 98(19): 8337–8346. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5919-9>
- Linthout S, Miteva K, Tschöpe C. 2014. Crosstalk between fibroblasts and inflammatory cells. *Cardiovascular Research*. 102(2): 258–269. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvu062>
- Ma T, Liaset B, Hao Q, Petersen RK, Fjære E, Ngo HT, Lillefosse HH, Ringholm S, Sonne SB, Treebak JT, Pilegaard H, Frøylund L, Kristiansen K, Madsen L. 2011. Sucrose counteracts the anti-inflammatory effect of fish oil in adipose tissue and increases obesity development in mice. *PLoS ONE*. 6(6): <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021647>

- Mansingh DP, Dalpati N, Sali VK, Vasanthi AHR. 2018. Alliin the precursor of allicin in garlic extract mitigates proliferation of gastric adenocarcinoma cells by modulating apoptosis. *Pharmacognosy Magazine*. 14(55): S84–S91. <https://doi.org/10.4103/pm.pm>
- Martinengo L, Olsson M, Bajpai R, Soljak M, Upton Z, Schmidtchen A, Car J, Järbrink K. 2019. Prevalence of chronic wounds in the general population: systematic review and meta-analysis of observational studies. *Annals of Epidemiology*. 29: 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2018.10.005>
- Mathur A, Bains VK, Gupta V, Jhingran R, Singh GP. 2015. Evaluation of intrabony defects treated with platelet-rich fibrin or autogenous bone graft: A comparative analysis . *European Journal of Dentistry*. 9(1): 100–108. <https://doi.org/10.4103/1305-7456.149653>
- Mescher AL. 2013. Junqueira's Basic Histology. Edisi ke-13. Pennsylvania: McGraw-Hill Medical.
- Moore RA, Burns B. 2018. Rule of Nines. Florida: StatPearls Publishing LLC. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30020659>
- Mueller M, Hobiger S, Jungbauer A. 2010. Anti-inflammatory activity of extracts from fruits, herbs and spices. *Food Chemistry*. 122(4): 987–996. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.041>
- Mufimah, Hidayat UR, Budiharto I. 2018. Efektivitas gel ekstrak bawang putih terhadap proses penyembuhan luka fase inflamasi. *Jurnal Vokasi Kesehatan*. 109–114.
- Murari A, Singh KN. 2019. Lund and Browder chart-modified versus original: A comparative study. *Acute and Critical Care*. 34(4): 276–281. <https://doi.org/10.4266/acc.2019.00647>
- Negara RFK, Retty R, Dina SD. 2014. Pengaruh Perawatan Luka Bakar Derajat II Menggunakan Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* Linn.) Terhadap Peningkatan Ketebalan Jaringan Granulasi pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar. *Majalah Kesehatan FKUB*. 1(2): 86–94.
- Nelwida, Berliana, Nurhayati. 2019. Kandungan nutrisi black garlic hasil pemanasan dengan waktu berbeda. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*. 22(1): 53–64.
- Nencini C, Menchiari A, Franchi GG, Micheli L. 2011. In vitro antioxidant activity of aged extracts of some Italian *Allium* species. *Plant Foods for Human Nutrition*. 66(1): 11–16. <https://doi.org/10.1007/s11130-010-0204-2>
- Nicks BA, Ayello EA, Woo K, Nitzki-George D, Sibbald RG. 2010. Acute wound

- management: Revisiting the approach to assessment, irrigation, and closure considerations. *International Journal of Emergency Medicine*. 3(4):399–407. <https://doi.org/10.1007/s12245-010-0217-5>
- Norbury W, Herndon DN, Tanksley J, Jeschke MG, Finnerty CC. 2016. Infection in burns. *Surgical Infections*. 17(2): 250–255. <https://doi.org/10.1089/sur.2013.134>
- Oh H, Kim M, You B, Kim M. 2012. Anti-inflammatory action of black garlic through downregulation of NF- κ B activation and MAP kinase phosphorylation. *The FASEB Journal*. 26(Suppl 1): 823–833.
- Park SY, Seetharaman R, Ko MJ, Kim DY, Kim TH, Yoon MK, Kwak JH, Lee SJ, Bae YS, Choi YW. 2014. Ethyl linoleate from garlic attenuates lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory cytokine production by inducing heme oxygenase-1 in RAW 264.7 cells. *International Immunopharmacology*. 19(2): 253–261. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2014.01.017>
- Percival SS. 2016. Aged garlic extract modifies human immunity. *The Journal of Nutrition*. 146(2): 433S–436S. <https://doi.org/https://doi.org/10.3945/jn.115.210427>
- Perdanakusuma DS. 2012. Surabaya Plastic Surgery. *Anatomi Fisiologi Kulit Dan Penyembuhan Luka*. Diakses di <https://fk.unair.ac.id/archives/2012/02/06/anatomi-fisiologi-kulit-dan-penyembuhan-luka.html> pada tanggal 20 Oktober 2020.
- Purnama H, Ratnawulan S. 2017. Review sistematik: Proses penyembuhan dan perawatan luka. *Farmaka*. 15(2): 251–258.
- Rabe SZT, Ghazanfari T, Siadat Z, Rastin M, Rabe SZT, Mahmoudi M. 2015. Anti-inflammatory effect of garlic 14-kDa protein on LPS-stimulated-J774A.1 macrophages. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 37(2): 158–164. <https://doi.org/10.3109/08923973.2015.1005229>
- Rae L, Fidler P, Gibran N. 2016. The Physiologic Basis of Burn Shock and the Need for Aggressive Fluid Resuscitation. In *Critical Care Clinics*. 32(4): 491–505). <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2016.06.001>
- Rahayuningsih T. 2012. Penatalaksanaan luka bakar (combustio). *Profesi*. 8. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.26576/profesi.11>
- Ridwan E. 2013. Etika pemanfaatan hewan percobaan dalam penelitian kesehatan. *Journal of the Indonesian Medical Association*. 63(3): 112–116.
- Robb CT, Regan KH, Dorward DA, Rossi AG. 2016. Key mechanisms governing resolution of lung inflammation. *Seminars in Immunopathology*. 38(4):

425–448. <https://doi.org/10.1007/s00281-016-0560-6>

- Robbins SL, Kumar V, Cotran RS. 2012. Buku Ajar Patologi. Edisi ke-9. Philadelphia: Saunders.
- Rosales C. 2018. Neutrophil: A cell with many roles in inflammation or several cell types? In *Frontiers in Physiology*. 9(FEB): 113. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00113>
- Rowan MP, Cancio LC, Elster EA, Burmeister DM, Rose LF, Natesan S, Chan RK, Christy RJ, Chung KK. 2015. Burn wound healing and treatment: review and advancements. *Critical Care*. 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13054-015-0961-2>
- Ryu JH, Kang D. 2017. Physicochemical properties, biological activity, health benefits, and general limitations of aged black garlic: A review. *Molecules*. 22(919): 1–14. <https://doi.org/10.3390/molecules22060919>
- Salahuddin M, Rahim MA, Alam SMJ, Rahman MM, Rahman J. 2019. Morphological characterization of garlic (*Allium sativum* L.) germplasm. *Malaysian Journal of Halal Research*. 2(2): 46–52. <https://doi.org/10.2478/mjhr-2019-0014>
- Samsudin RR, Arimurti ARR. 2018. Potensi ekstrak kulit jeruk Pacitan (*Citrus sinensis*) sebagai stimulus regenerasi sel pada luka bakar *Rattus norvegicus*. *JLabMed*. 2(2): 19–23.
- Santhosha SG, Jamuna P, Prabhavathi SN. 2013. Bioactive components of garlic and their physiological role in health maintenance: A review. In *Food Bioscience*. 3: 59–74. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2013.07.001>
- Santi D. 2013. Aktivitas Antibakteri Fraksi Etanol-Air Dari Ekstrak Etanol Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans* dan *Pseudomonas Aeruginosa* Serta Bioautografi [skripsi]. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Schaefer TJ, Szymanski KD. 2020. Burn Evaluation And Management. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28613492>
- Schreml S, Szeimies RM, Prantl L, Landthaler M, Babilas P. 2010. Wound healing in the 21st century. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 63(5): 866–881. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2009.10.048>
- Seckiner I, Bayrak O, Can M, Mungan AG, Mungan NA. 2014. Garlic supplemented diet attenuates gentamicin nephrotoxicity in rats. *International Brazilian Journal of Urology*. 40(4): 562–567.

<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/S1677-5538.IBJU.2014.04.17>

- Sengupta P. 2013. The laboratory rat: Relating its age with human's. *International Journal of Preventive Medicine*. 4(6): 624–630.
- Septiana L. 2018. Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) dan Keamanan Terhadap Tukak Lambung. Universitas Setia Budi Surakarta.
- Sherwood L. 2014. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. Edisi ke-8. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Shin JH, Ryu JH, Kang MJ, Hwang CR, Han JH, Kang DW. 2013. Short-term heating reduces the anti-inflammatory effects of fresh raw garlic extracts on the LPS-induced production of NO and pro-inflammatory cytokines by downregulating allicin activity in RAW264.7 macrophages. *Food and Chemical Toxicology*. 58: 545–551. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.04.002>
- Shin JH, Lee CW, Oh SJ, Yun J, Kang MR, Han SB, Park H, Jung JC, Chung YH, Kang JS. 2014. Hepatoprotective effect of aged black garlic extract in rodents. *Toxicology Research*. 30(1): 49–54. <https://doi.org/10.5487/TR.2014.30.1.049>
- Stone R, Natesan S, Kowalczewski CJ, Mangum LH, Clay NE, Clohessy RM, Carlsson AH, Tassin DH, Chan RK, Rizzo JA, Christy RJ. 2018. Advancements in regenerative strategies through the continuum of burn care. In *Frontiers in Pharmacology*. 9(JUL): 672. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00672>
- Strudwick XL, Cowin AJ. 2017. The Role of the Inflammatory Response in Burn Injury. Dalam: *Hot Topics in Burn Injury*. London: Intech Open. hlm. 37–57. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71330>
- Swarjana IK. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Edisi ke-1. Yogyakarta: ANDI.
- Szychowski KA, Rybczyńska-Tkaczyk K, Gawel-Bęben K, Świeca M, Karaś M, Jakubczyk A, Matysiak M, Binduga UE, Gmiński J. 2018. Characterization of active compounds of different garlic (*Allium sativum* L.) cultivars. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 68(1): 73–81. <https://doi.org/https://doi.org/10.1515/pjfn-2017-0005>
- Theoharides TC, Alysandratos KD, Angelidou A, Delivanis DA, Sismanopoulos N, Zhang B, Asadi S, Vasiadi M, Weng Z, Miniati A, Kalogeromitros D. 2012. Mast cells and inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. 1822(1): 21–33. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2010.12.014>

- Tintinalli JE. 2010. Emergency Medicine: A Comprehensive Study Guide (Emergency Medicine (Tintinalli)). Pennsylvania: McGraw-Hill Medical.
- Tolles J. 2018. Emergency department management of patients with thermal burns. *Emerg Med Pract.* 20(2): 1–24.
- Trainor D, McClure J. 2014. Critical care management of inhalational injury and severe burns. *Trauma.* 15(9): 415–419. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2014.06.010>
- Tran GB, Pham TV, Trinh NN. 2019. Black garlic and its therapeutic benefits. Dalam: *Studies in Garlic.* London: Intech Open. <https://doi.org/doi.org/10.5772/intechopen.85042>
- Turner MD, Nedjai B, Hurst T, Pennington DJ. 2014. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research.* 1843(11): 2563–2582. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2014.05.014>
- Wald DA. 2012. Burns. Dalam: Mahadevan SV, Garmel GM, penyunting. *An Introduction to Clinical Emergency Medicine.* Edisi ke-2. Cambridge: Cambridge University Press. hlm. 216–219.
- Wang X, Jiao F, Wang QW, Wang J, Yang K, Hu RR, Liu HC, Wang HY, Wang YS. 2012. Aged black garlic extract induces inhibition of gastric cancer cell growth in vitro and in vivo. *Molecular Medicine Reports.* 5(1): 66–72. <https://doi.org/10.3892/mmr.2011.588>
- Wang YC, Guan M, Zhao X, Li XL. 2018. Effects of garlic polysaccharide on alcoholic liver fibrosis and intestinal microflora in mice. *Pharmaceutical Biology.* 56(1): 325–332. <https://doi.org/10.1080/13880209.2018.1479868>
- Warby R, Maani CV. 2019. Burns Classification. Florida: StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30969595>
- Widiartini W, Siswati E, Setiyawati A, Rohmah IM, Prasetyo E. 2013. Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Tersertifikasi dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboratorium. Surabaya: Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Diponegoro.
- World Health Organization. 2018. Burns.
- Yin S. 2017. Chemical and common burns in children. *Clinical Pediatrics (Phila).* 56(Suppl 5): 8S-12S.
- Yoo DY, Kim W, Nam SM, Yoo M, Lee S, Yoon YS, Won MH, Hwang IK, Choi

- JH. 2014. Neuroprotective effects of Z-ajoene, an organosulfur compound derived from oil-macerated garlic, in the gerbil hippocampal CA1 region after transient forebrain ischemia. *Food and Chemical Toxicology*. 72: 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.06.023>
- Yoo M, Lee S, Kim S, Hwang J, Choe J, Shin D. 2014. Composition of organosulfur compounds from cooland warm-type garlic (*Allium sativum* L.) in Korea. *Food Science and Biotechnology*. 23: 337–344. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s10068-014-0047-y>
- Yoo YC, Kim HJ, Kim MJ, Sohn EJ, Min AY, Sung NY, Kim MR, Al KIMET. 2014. Aged black garlic exerts anti-inflammatory effects by decreasing NO and proinflammatory cytokine production with less cytotoxicity in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages and LPS-induced septicemia mice. *Journal of Medicinal Food*. 17(10): 1057–1063. <https://doi.org/10.1089/jmf.2013.3043>
- You BR, Yoo J, Baek SY, Kim MR. 2019. Anti-inflammatory effect of aged black garlic on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced dermatitis in mice. *Nutrition Research and Practice*. 13(3): 189–195. <https://doi.org/doi.org/10.4162/nrp.2019.13.3.189>.
- Yun HM, Ban JO, Park KR, Lee CK, Jeong HS, Han SB, Hong JT. 2014. Potential therapeutic effects of functionally active compounds isolated from garlic. *Pharmacology & Therapeutics*. 142(2): 183–195. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.12.005>
- Zahra AP, Carolia N. 2017. Obat Anti-inflamasi Non-steroid (OAINS): Gastroprotektif vs Kardiotoksik. *Majority*. 6(3): 153–158.
- Zardast M, Namakin K, Kaho JE, Hashemi SS. 2016. Assessment of antibacterial effect of garlic in patients infected with *Helicobacter pylori* using urease breath test. *Avicenna Journal of Phytomedicine*. 6(5): 495–501.