

PERBEDAAN RESPON TERAPI SALEP VCO (*VIRGIN COCONUT OIL*) DENGAN SEDIAAN TOPIKAL EKSTRAK PLASENTA TERHADAP LUKA BAKAR DERAJAT II B PADA TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) DITINJAU DARI EKSPRESI TGF- β DAN HISTOPATOLOGI KULIT

SKRIPSI

Oleh:

MUHAMMAD NOVRIZAL

145130101111008



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

KATA PENGANTAR

Puji syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa karena atas limpahan rahmat, hidayah dan pertolongan-Nya lah sehingga penulis mampu menyelesaikan proposal skripsi yang berjudul Perbedaan Respon Terapi Salep VCO (*Virgin Coconut Oil*) dengan Sediaan Topikal Ekstrak Plasenta terhadap Luka Bakar Derajat II B pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Ditinjau dari Ekspresi TGF- β dan Histopatologi Kulit dengan lancar.

Selama proses penulisan dan penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Sri Murwani, drh, MP selaku dosen pembimbing satu yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membimbing, memberi arahan, memberikan kritik dan saran serta motivasi kepada penulis.
2. drh. Dahliatul Qosimah, M. Kes selaku dosen pembimbing dua yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membimbing, memberi arahan, memberikan kritik dan saran serta motivasi kepada penulis.
3. drh. Indah Amalia Amri, M. Si sebagai dosen penguji satu yang telah banyak memberikan saran dan kritik yang membangun kepada penulis
4. drh. Galuh Chandra Agustina, M. Si sebagai dosen penguji dua yang telah banyak memberikan saran dan kritik yang membangun kepada penulis
5. Seluruh staf dan karyawan FKH UB, yang telah membantu jalannya proses administrasi dalam membuat tugas akhir.
6. Keluarga tercinta Bapak Marwanto, Ibu Umi Nuryani, Wildan Nurma Putra, Farchiyata dan Annisa Larasati yang senantiasa memberikan doa, dukungan, motivasi dan kasih sayang kepada penulis.
7. Sahabat satu perjuangan asal Lampung Davinci Oswald, Yohanes, Bayu, Biya dan Atifah yang senantiasa memberi semangat kepada penulis.
8. Keluarga besar *Amaze Class* atas persahabatan dan dukungan yang luar biasa.
9. Kelompok skripsi “VCO Squad”; Ica, Anisa, Flora dan Ijal atas segala dukungan dan kerjasamanya.
10. Aldi, Beni, Icha dan Aisyah yang selalu memberikan semangat dan dukungan

11. Semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, khususnya bagi penulis dan para pembaca pada umumnya, semoga Allah SWT meridhoi dan dicatat sebagai ibadah disisi-Nya, Amin.

Malang, 21 Agustus 2018

Penulis



**Perbedaan Respon Terapi Salep VCO (*Virgin Coconut Oil*) dengan
Sediaan Topikal Ekstrak Plasenta Terhadap Luka Bakar
Derajat II B pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)
Ditinjau dari Ekspresi TGF- β dan
Histopatologi Kulit**

ABSTRAK

Luka bakar merupakan kerusakan pada jaringan yang disebabkan adanya kontak sumber panas dengan kulit. Terapi luka bakar umumnya menggunakan kombinasi sediaan gel ekstrak plasenta dan neomisin sulfat. Gel ekstrak plasenta membentuk jaringan baru dengan meningkatkan TGF- β dan VEGF pada fase proliferasi luka, sedangkan neomisin sulfat merupakan antibakteri. Pilihan terapi lain yakni VCO (*Virgin Coconut Oil*) dinilai memiliki potensi untuk digunakan sebagai terapi luka bakar karena memiliki kandungan *phytosterol* yang berfungsi sebagai antiinflamasi, *tokoferol* yang berfungsi sebagai antioksidan dan asam laurat yang berfungsi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan respon antara sediaan topikal ekstrak plasenta dan VCO dalam penyembuhan luka bakar derajat II b. Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) *post test only two group* dengan 2 perlakuan berupa kelompok perlakuan dengan terapi ekstrak plasenta dan kelompok perlakuan dengan terapi VCO. Hewan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tikus putih jantan strain Wistar dengan berat 150–200 gram berjumlah 18 ekor. Parameter yang diamati yakni Ekspresi TGF- β dan Histopatologi kulit. Ekspresi TGF- β diuji menggunakan Imunohistokimia dan dihitung dengan software *Imunoratio* lalu dianalisa menggunakan *independent t test* untuk melihat ada tidaknya perbedaan respon antara dua perlakuan ($\alpha=0,05$). Sedangkan perubahan mikroskopis kulit diamati secara histopatologi dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) dan dijelaskan secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara pemberian salep VCO dan gel ekstrak plasenta terhadap luka bakar derajat II b ditinjau dari ekspresi TGF- β dan Histopatologi kulit. Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian terapi salep VCO pada luka bakar derajat II b memberikan respon yang sama dengan gel ekstrak plasenta.

Kata kunci: Luka bakar, VCO, Ekstrak Plasenta, TGF- β , Histopatologi kulit.

Differences Respons of VCO (Virgin Coconut Oil) Ointment Therapy with Placenta Extract Gel on II B Degree Burn Wound in White Rats (*Rattus norvegicus*) based on Expression of TGF- β and Skin Histopathology

ABSTRACT

Burns are tissue damage caused by contact of heat sources with the skin. Currently the treatment of burns generally use combination of placenta extract and neomycin sulfate. Placental extract gel forms new tissue by increasing TGF- β and VEGF in the wound proliferation phase, while neomycin sulfate have antibacterial properties. Another choice of therapy is VCO (Virgin Coconut Oil) has the potential to be used as burn therapy because VCO contains phytosterol which serves as anti-inflammatory, tocopherol which function as antioxidant and lauric acid which have antibacterial. This research aims to know the difference of response between topical agent of extract placenta gel and VCO ointment in healing II b degree burn wound. The experimental research used by RAL post test only two group with 2 groups those are treatment with placenta extract and treatment with VCO. Animals models used with a male white rats Wistar strain with body weight 150-200 grams of as many as 18 rats which divided into 2 groups. The parameters measured were TGF- β Expression and Skin Histopathology. The expression of TGF- β tested by using the Immunohistochemical method and count with Imunoratio software and analyzed with independent t test to see the difference of response between two treatments ($\alpha=0,05$). Observation on histopathology skin used Hematoxylin-eosin staining and analyzed are descriptive. The result showed there is no significant difference between VCO ointment and placenta extract gel to second degree burns b based on expression of TGF- β and Skin Histopathology. In conclusion, that the VCO ointment on second degree b burns gave the same response as the placenta extract gel.

Keywords: Burn wound, VCO, Placenta Extract, TGF- β , Skin Histopathology

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Struktur Kulit	7
2.2. Lapisan Epidermis dan Dermis Secara Histologi	12
2.3. Luka Bakar Derajat I.....	16
2.4. Luka Bakar Derajat II a.....	17
2.5. Luka Bakar Derajat III	18
2.6. Zona Luka Bakar.....	19
2.7. Buah Kelapa	27
2.8. Tikus Putih (<i>Rattus Novergicus</i>)	29
3.1. Kerangka Konsep Penelitian	30
5.1. Gambaran Luka Bakar Post Induksi	44
5.2. Gambaran makroskopis luka bakar setelah terapi pada hari ke-4.....	45
5.3. Gambaran makroskopis luka bakar setelah terapi pada hari ke-7.....	47
5.4. Ekspresi <i>Transforming Growth Factor Beta</i> (TGF- β) pada jaringan kulit tikus (<i>Rattus novergicus</i>) model luka bakar yang diterapi salep VCO	50
5.5. Ekspresi <i>Transforming Growth Factor Beta</i> (TGF- β) pada jaringan kulit tikus (<i>Rattus novergicus</i>) model luka bakar yang diterapi gel Ekstrak plasenta.....	50
5.6. Histopatologi kulit kelompok perlakuan terapi salep VCO	56
5.7. Histopatologi kulit kelompok perlakuan terapi gel ekstrak plasenta	59

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kulit.....	7
2.1.1 Struktur Kulit.....	7
2.1.2 Fungsi Kulit.....	14
2.2 Luka Bakar	15
2.3 Patofisiologi luka bakar.....	18
2.4 Proses Penyembuhan Luka Bakar	20
2.5 <i>Transforming Growth Factor Beta</i> (TGF- β).....	25
2.6 Sediaan Gel Ekstrak Plasenta	25
2.7 <i>Virgin Coconut Oil</i> (VCO).....	26
2.8 Hewan Coba Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>).....	28
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep	30
3.2 Hipotesa Penelitian	34
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	35
4.2 Alat dan Bahan Penelitian	35
4.3 Sampel Penelitian	36
4.4 Rancangan Penelitian	36

4.5 Variabel Penelitian	37
4.6 Tahapan Penelitian	37
4.7 Prosedur Kerja.....	38
4.7.1 Persiapan Hewan Coba.....	38
4.7.2 Persiapan VCO	38
4.7.3 Persiapan Sediaan Topikal gel Ekstrak Plasenta	39
4.7.4 Induksi Luka Bakar Derajat II B Pada Hewan Coba.....	39
4.7.5 Pemberian Ekstrak Plasenta dan VCO Topikal.....	39
4.7.6 Pengambilan Sampel Kulit	40
4.7.7 Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit	40
4.7.8 Ekspresi TGF- β menggunakan Imunohistokimia.....	41
4.7.9 Analisis Data	42
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Gambaran Makroskopis Hasil Terapi Salep VCO dan Gel Ekstrak Plasenta terhadap Luka Bakar Derajat II b pada Tikus Putih	44
5.2 Perbedaan Respon Terapi Salep VCO dan Gel Ekstrak Plasenta pada Luka Bakar Tikus berdasarkan Ekspresi TGF- β	49
5.3 Perbedaan Respon Terapi Salep VCO dan Gel Ekstrak Plasenta pada Luka Bakar Tikus berdasarkan Gambaran Histopatologi Kulit.....	55
BAB VI PENUTUP	
6.1 Kesimpulan	62
6.2 Saran.....	62
DAFTAR PUSTAKA	63
LAMPIRAN	68

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1. Rancangan Penelitian	37
5.1. Rata-Rata Ekspresi TGF- β pada Kulit Tikus	51



LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**PERBEDAAN RESPON TERAPI SALEP VCO (*VIRGIN COCONUT OIL*)
DENGAN SEDIAAN TOPIKAL EKSTRAK PLASENTA
TERHADAP LUKA BAKAR DERAJAT II B
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
DITINJAU DARI EKSPRESI TGF- β
DAN HISTOPATOLOGI KULIT**

Oleh:

MUHAMMAD NOVRIZAL

145130101111008

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 19 Oktober 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Sri Murwani, drh, MP

NIP. 19630101 198903 2 001

drh. Dahliatul Qosimah, M. Kes

NIP. 19820127 201504 2 001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES

NIP. 19600903 198802 2 001

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kulit merupakan organ terluar dari tubuh manusia dan hewan yang memiliki fungsi diantaranya sebagai perlindungan terhadap benda asing, pencegahan terhadap kehilangan cairan tubuh dan berperan dalam proses termoregulasi (Sabiston, 2008). Organ ini rentan terjadi kerusakan karena langsung berhubungan dengan dunia luar. Salah satu kerusakan yang dapat terjadi pada kulit yakni luka bakar. Luka bakar merupakan suatu bentuk kerusakan atau kehilangan jaringan yang disebabkan adanya pengalihan energi dari sumber panas kepada tubuh (Moenadjat, 2003). Sumber panas dapat berupa api, air panas, bahan-bahan kimia, listrik dan radiasi. Luka bakar akan menimbulkan rasa nyeri, panas dan bengkak pada daerah luka yang apabila tidak segera ditangani dengan baik dapat menyebabkan luka terinfeksi bakteri (Tiwari, 2012).

Berdasarkan kedalamannya, luka bakar dibagi menjadi beberapa derajat diantaranya luka bakar derajat I (*superfisial*), derajat II a (*superficial partial thickness*) dan II b (*deep partial thickness*) serta luka bakar derajat III (*full thickness*). Luka bakar derajat I hanya mengenai lapisan kulit terluar (epidermis) yang ditandai dengan kulit kering dan hiperemi namun tidak dijumpai *bullae*. Sedangkan luka bakar derajat II a terjadi kerusakan di bagian superfisial dermis dan luka bakar derajat II b kerusakan terjadi hampir di seluruh bagian dermis. Luka bakar derajat III terjadi kerusakan pada seluruh dermis dan bagian yang lebih dalam lagi (Moenadjat, 2003).

Kontak sumber panas dengan kulit memicu peningkatan permeabilitas kapiler yang mengakibatkan perpindahan cairan plasma dari ruang intravaskuler ke ruang interstitial sehingga menyebabkan terjadinya inflamasi dengan munculnya edema (Morison, 2004). Laju aliran darah yang tinggi juga menyebabkan area luka mengalami kemerahan dan terasa hangat karena kalor yang dibawa oleh darah. Kemudian sel-sel kekebalan tubuh seperti neutrofil, makrofag akan bermigrasi ke area luka dan memfagositosis zat asing yang masuk. Makrofag menghasilkan berbagai sitokin proinflamasi seperti $TNF-\alpha$ dan faktor pertumbuhan salah satunya *Transforming growth factor- β* (TGF- β) (Abbas *et al.*, 2017).

Transforming growth factor- β (TGF- β) pada fase inflamasi berfungsi menghambat proliferasi, aktivasi limfosit dan leukosit lainnya. Hal ini menyebabkan inflamasi berlangsung cepat karena kerja dari sitokin proinflamasi dihambat. Sedangkan pada fase proliferasi TGF- β bekerja melawan efek sitokin proinflamasi dan melakukan perbaikan jaringan dengan menstimulasi proliferasi fibroblast untuk membentuk jaringan granulasi dan perbaikan kapiler (Abbas *et al.*, 2003).

Penanganan luka bakar harus dilakukan secara cepat dan tepat guna meminimalisir dampak yang dapat merugikan penderita. Obat topikal yang biasa digunakan oleh masyarakat dalam penyembuhan luka bakar yaitu obat topikal sediaan gel ekstrak plasenta 10% dan neomisin sulfat 0,5%. Ekstrak plasenta berfungsi memicu pembentukan jaringan baru dengan meningkatkan TGF- β dan VEGF pada akhir fase kesembuhan luka sehingga dapat menstimulasi regenerasi sel. Sedangkan neomisin sulfat memiliki aktivitas

bakteriosid yang mampu mencegah infeksi bakteri sehingga kombinasi antara sediaan topikal ekstrak plasenta dan neomisin sulfat memiliki kemampuan untuk mempercepat penyembuhan luka (Koch *et al.*, 2012). Sediaan gel ekstrak plasenta, telah teruji klinis dan efektif untuk menyembuhkan luka bakar. Namun ekstrak plasenta tidak boleh digunakan untuk orang yang alergi terhadap ekstrak plasenta dan antibiotik neomycin sulfat karena dapat menyebabkan efek samping seperti kulit kemerahan, gatal atau bengkak. VCO (*Virgin Coconut Oil*) dicoba dalam penelitian ini yang diharapkan mampu memberi respon baik layaknya gel ekstrak plasenta atau bahkan memiliki potensi lebih baik dibanding gel ekstrak plasenta dalam mengobati luka bakar.

Virgin Coconut Oil (VCO) adalah minyak kelapa murni yang dibuat dari daging buah kelapa segar, diolah dengan proses pemisahan alami tanpa pemanasan atau dengan pemanasan rendah (Sumiasih dkk, 2016). Penelitian Silalahi *and* Surbakti (2015) menunjukkan bahwa konsentrasi VCO 70% memberi efek penyembuhan baik terhadap luka bakar. Kandungan asam laurat yang merupakan asam lemak jenuh rantai sedang dalam VCO berfungsi sebagai antiviral dan antibakteri, kerjanya dengan merusak struktur *lipid bilayer* virus dan membran sel bakteri. Asam laurat juga berkaitan dengan peningkatan aktivitas TGF- β (Tamara dkk, 2014).

Ketika TGF- β meningkat maka akan mempercepat proliferasi fibroblast, menstimulasi kolagen dalam membentuk kekuatan luka. Kandungan lain pada VCO yakni *phytosterol* berperan sebagai senyawa anti-inflamasi dengan menghambat asam arakidonat pada jalur siklooksigenase sehingga akan menghambat aktivitas makrofag dalam menghasilkan mediator pro-inflamasi

(Rathee *et al.*, 2009). Sedangkan kandungan *tokoferol* pada VCO berfungsi sebagai antioksidan dengan mencegah terjadinya oksidasi yang memicu kerusakan sel akibat oksigen perusak, lipid peroksida atau radikal bebas. *Tokoferol* memiliki cincin fenol yang mampu memberikan ion hidrogenya kepada radikal bebas sehingga mencegah adanya reaksi oksidasi (Siswanto dkk., 2013).

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini mengkaji perbedaan respon terapi antara sediaan topikal Ekstrak plasenta dengan VCO terhadap luka bakar derajat II b pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) ditinjau dari ekspresi TGF- β dan histopatologi kulit.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah yang didapat adalah:

- 1) Apakah terdapat perbedaan respon terapi antara sediaan topikal VCO dan Ekstra plasenta terhadap penyembuhan luka bakar derajat II b ditinjau dari ekspresi TGF- β pada kulit tikus putih (*Rattus norvegicus*)?
- 2) Apakah terdapat perbedaan respon terapi antara sediaan topikal VCO dan Ekstrak Plasenta terhadap penyembuhan luka bakar derajat II b pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) ditinjau dari histopatologi kulit?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dbatasi pada:

- 1) Hewan coba yang digunakan yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar yang didapatkan dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan umur 8-12 minggu dan berat badan 150-200 gram (Kusuma dkk, 2014). Penggunaan hewan coba telah mendapat persetujuan Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya dengan no. 867-KEP-UB.
- 2) Lokasi luka bakar derajat II b dibuat pada daerah flank yang terletak diantara os costae terakhir dan os ilium dengan menempelkan plat besi 2x2 cm yang tersambung dengan solder listrik selama 10 detik (Akbari *et al.*, 2015). Solder dipanaskan selama 5 menit hingga mencapai suhu 100-150°C (Abdeldjelil *et al.*, 2017). Luka bakar derajat II b ditandai dengan warna kemerahan pada kulit dan terbentuknya *bullae* (Moenadjat, 2003).
- 3) VCO dibuat menjadi salep konsentrasi 70 % dengan adeps lanae yang merupakan modifikasi dari penelitian Silalahi *and* Surbakti (2015). Salep VCO kemudian dioleskan langsung diatas luka bakar dua kali sehari selama 7 hari sebanyak 0,1 gram (Balqis dkk, 2014).
- 4) Terapi luka bakar juga dilakukan menggunakan sediaan topikal yang tersedia di pasaran dengan kandungan ekstrak plasenta 10 % dan neomisin sulfat 0,5%. Pemberian sediaan dioleskan langsung diatas luka bakar dua kali sehari selama 7 hari sebanyak 0,1 gram (Balqis dkk, 2014).
- 5) Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah ekspresi TGF- β dan histopatologi kulit. Pengamatan ekspresi TGF- β menggunakan metode Imunohistokimia lalu dihitung menggunakan software Immunoratio dan

pengamatan histopatologi kulit menggunakan pewarnaan *Hematoxylen Eosin* (HE).

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka tujuan penelitian adalah:

- 1) Mengetahui perbedaan respon terapi antara *Virgin Coconut Oil* (VCO) dan Ekstrak plasenta terhadap penyembuhan luka bakar derajat II b ditinjau dari ekspresi TGF- β pada kulit tikus putih (*Rattus norvegicus*)
- 2) Mengetahui perbedaan respon terapi *Virgin Coconut Oil* (VCO) dan Ekstrak Plasenta terhadap penyembuhan luka bakar derajat II b ditinjau dari histopatologi kulit pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)

1.5 Manfaat Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka didapatkan manfaat penelitian sebagai berikut:

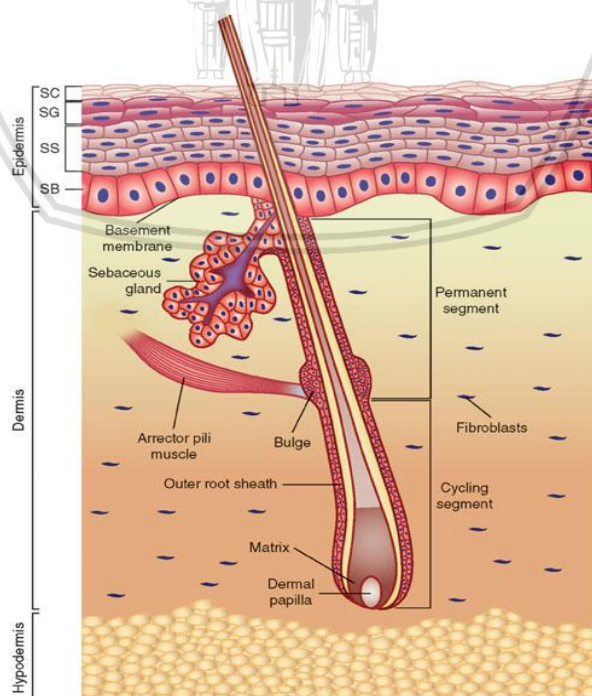
- 1) Dapat memberikan informasi ilmiah terkait perbedaan respon terapi antara Salep VCO dan Ekstrak plasenta
- 2) Dapat menjadi dasar bagi penelitian selanjutnya untuk mengembangkan pemanfaatan VCO sebagai obat alternatif penyembuhan luka bakar derajat II b selain sediaan topikal ekstrak plasenta
- 3) Memaksimalkan pemanfaatan sumber daya alam dalam pengembangan kelestarian lingkungan

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit

2.1.1 Struktur Kulit

Kulit merupakan organ terluar tubuh manusia dan hewan yang berfungsi sebagai proteksi pertama terhadap adanya patogen, zat kimia, sinar matahari, radiasi dan gangguan fisik. Selain itu kulit juga berperan dalam proses termoregulasi dan mencegah masuknya mikroorganisme ke jaringan tubuh yang lebih dalam (Dzulfikar, 2012). Struktur kulit (**Gambar 2.1**) secara garis besar tersusun dari tiga lapisan utama yaitu epidermis, dermis dan hipodermis atau subkutan. Epidermis merupakan lapisan kulit yang letaknya paling luar, sedangkan dermis merupakan jaringan yang mengandung kolagen, elastin, sel syaraf, pembuluh darah dan jaringan limfatik. Hipodermis terletak dibawah dermis, terdiri dari jaringan ikat dan lemak (Sabiston, 2008).



Gambar 2.1 Struktur Kulit Tikus

Menurut Kalangi (2013), epidermis merupakan lapisan paling luar kulit yang terdiri dari epitel berlapis gepeng (squamous kompleks) dengan lapisan tanduk. Terdapat empat jenis sel epidermis diantaranya keratinosit, melanosit, sel Langerhans dan sel Merkel.

a. Keratinosit

Merupakan hasil pembelahan sel pada lapisan epidermis yang paling dalam (*stratum basale*), tumbuh ke arah permukaan kulit dan sewaktu bergerak ke atas keratinosit mengalami proses yang disebut diferensiasi terminal untuk membentuk sel-sel lapisan permukaan (*stratum korneum*). Komponen-komponen kerangka dalam dari semua sel tersebut disebut filamen intermediet, yang di dalam sel-sel epitel tersusun dari sekelompok protein berserabut yang disebut keratin.

Selama diferensiasi, filamen-filamen keratin pada korneosit beragregasi dibawah pengaruh *fillagrin*. Proses agregasi itu disebut keratinisasi, dan berkas-berkas filamen membentuk suatu jaringan intraseluler kompleks yang terbenam dalam matriks protein amorf yang merupakan derivat dari granula-granula pada *stratum granulosum*. Suatu sel dari *stratum basale* membutuhkan waktu kurang lebih 8-10 minggu untuk mencapai permukaan epidermis dan sel-sel yang hilang dari permukaan sama banyaknya dengan sel-sel yang diproduksi pada *stratum basale* sehingga ketebalan epidermis selalu tetap (Brown, 2005).

b. Melanosit

Melanosit meliputi 7-10 % sel epidermis, merupakan sel kecil dengan cabang dendritik panjang tipis dan berakhir pada keratinosit di stratum basale. Melanosit berperan dalam produksi pigmen melanin. Melanosit mengandung organel-organel sitoplasma yang disebut melanosome, tempat pembentukan melanin dari tirosin. Melanosom bermigrasi sepanjang dendrit dari melanosit dan ditransfer ke dalam keratinosit pada stratum spinosum. Melanin melindungi inti sel pada epidermis dari radiasi UV (Brown, 2005).

c. Sel Langerhans

Sel Langerhans merupakan sel dendritik yang bentuknya ireguler, ditemukan diantara keratinosit dalam stratum spinosum. Sel Langerhans berperan dalam respon imun kulit, memfagositosis zat asing/antigen yang masuk atau mempersiapkan antigen eksternal untuk dipresentasikan ke limfosit T (Kalangi, 2013).

d. Sel Merkel

Jumlah sel jenis ini paling sedikit, berasal dari kista neuralis dan ditemukan pada lapisan basal kulit tebal, folikel rambut dan membran mukosa mulut. Sel Merkel merupakan sel besar dengan cabang sitoplasma pendek, berperan sebagai reseptor rasa sentuh (Kalangi, 2013).

Dermis merupakan lapisan yang letaknya dibawah epidermis, berisi folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar sebacea, pembuluh limfatik, pembuluh darah dan fibroblas (Perdanakusuma, 2007). Lapisan dermis jauh

lebih tebal dibanding lapisan epidermis. Lapisan dermis berbentuk anyaman serat yang mengikat. Serat-serat tersebut adalah kolagen dan elastin. Serat kolagen terdiri dari sejumlah berkas fibril paralel. Secara kimia serat ini tersusun dari protein kolagen, berwarna putih, lebar dan kuat (Sumbayak, 2016).

Serat elastin terbentuk secara tunggal dan tersusun dari protein elastin. Warnanya kuning, lebih besar namun jauh lebih tipis dibanding serat kolagen. Serat elastin berperan menjaga elastisitas kulit. Pada permukaan dermis tersusun juga atas papil-papil kecil yang berisi ranting-ranting pembuluh darah kapiler. Lapisan dermis tersusun dari stratum papilaris dan stratum retikularis (Kalangi, 2013).

Pada lapisan dermis terdapat 3 elemen utama yaitu:

a. Fibroblas

Fibroblas merupakan sel yang paling umum ditemui pada jaringan ikat, berukuran besar, gepeng, bercabang-cabang dan dari samping terlihat berbentuk gelendong atau fusiform serta cabang-cabangnya berbentuk langsing. Fibroblas mensintesis beberapa komponen matriks ekstraseluler (kolagen, elastin, retikuler), beberapa makro molekul anionik (glikosaminoglikan, proteoglikan) serta glikoprotein, laminin dan fibronektin yang dapat mendorong perlekatan sel pada substrat. Di samping itu, sel fibroblas juga mensekresikan sitokin dan beberapa faktor pertumbuhan yang dapat menstimulasi proliferasi sel (Sumbayak, 2016).

b. Sel mast

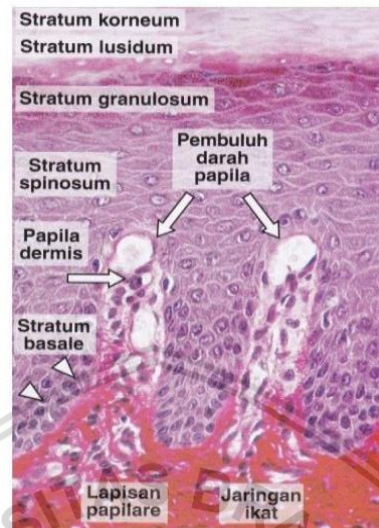
Sel mast merupakan sel penghasil sekret yang terdapat di seluruh dermis, tetapi lebih banyak terdapat di sekitar pembuluh darah dan aksesori dermis. Sel mast berisi granula yang kandungannya mencakup mediator-mediator radang seperti histamin, prostaglandin, leukotrin dan faktor-faktor kemotaksis eosinofil dan neutrofil. Bahan aktif yang dilepaskan oleh sel mast akan memicu peningkatan permeabilitas kapiler sehingga sel neutrofil dapat bermigrasi ke jaringan yang luka (Brown, 2005).

c. Makrofag

Makrofag merupakan sel fagosit mononuklear yang utama di jaringan dalam proses fagositosis terhadap mikroorganisme dan kompleks molekul asing lainnya. Makrofag diproduksi di sumsum tulang, berperan menghasilkan berbagai macam mediator inflamasi dan penyaji faktor pertumbuhan penting selama proses penyembuhan luka seperti TGF Beta, FGF, PDGF dan VEGF. Faktor pertumbuhan tersebut nantinya akan meningkatkan proliferasi sel dan sintesis matrik ekstraseluler (Widjajanto, 2005).

Hipodermis atau subkutis merupakan lapisan yang berada di bawah lapisan dermis, tidak memiliki garis tegas yang memisahkan dermis dan subkutis. Hipodermis terdiri dari jaringan ikat longgar dan jaringan lemak. Lapisan jaringan lemak berfungsi sebagai penyekat panas, bantalan terhadap trauma atau benturan-benturan fisik dan tempat penyimpanan energi (Perdanakusuma, 2007).

Lapisan-lapisan pada epidermis dan dermis secara histologis dapat dilihat pada **Gambar 2.2**.



Gambar 2.2 Lapisan epidermis dan dermis secara histologis (Junqueira, 2005)

a. *Stratum korneum*

Lapisan paling atas yang memiliki banyak lapisan sel-sel mati, berbentuk pipih, tidak berinti dan sitoplasmanya yang tergantikan oleh keratin. Lapisan ini berfungsi sebagai pelindung pertama kulit dari adanya mikroorganisme dan benda-benda asing (Brown, 2005).

b. *Stratum lusidum*

Lapisan ini terlihat jelas pada bagian tubuh yang memiliki lapisan epidermis tebal, seperti pada telapak kaki dan telapak tangan. Lapisan ini dibentuk oleh 2-3 lapisan sel gepeng yang tembus cahaya, dan agak eosinofilik. Tidak ada inti maupun organel pada sel-sel lapisan ini. Walaupun ada sedikit demosom, tetapi adhesi yang kurang pada lapisan-lapisannya sehingga pada sajian seringkali tampak garis celah yang memisahkan stratum lusidum dengan lapisan lain dibawahnya (Kalangi, 2013).

c. *Stratum granulosum*

Stratum granulosum terdiri dari 2-4 lapisan sel yang mengandung banyak granula *kerato hyaline* dengan mikrofilamen yang melekat pada permukaan granula. Di sitoplasma sel pada stratum granulosum terdapat sel organel granula lamelar yang mengandung enzim dan lemak. Granula lamelar kemudian dilepaskan ke ruang interstitial diantara stratum granulosum dan stratum korneum sebagai pertahanan bagi epidermis (Brown, 2005).

d. *Stratum spinosum*

Lapisan yang terdiri dari beberapa lapis sel yang besar berbentuk polygonal dengan inti lonjong dan sitoplasmanya berwarna kebiruan. Pada lapisan ini terdapat desmosom yang berfungsi melekatkan sel-sel satu sama lain. Semakin ke atas bentuk sel semakin gepeng.

e. *Stratum basale*

Lapisan epidermis yang paling dalam terdiri atas satu lapis sel yang berbentuk kubus atau silindris dan tersusun berderet, saling melekat pada lapisan dermis dibawahnya. Apabila ada luka, sel-sel pada lapisan ini bermigrasi ke arah permukaan untuk memasok sel-sel pada lapisan yang lebih superfisial untuk regenerasi (Brown, 2005).

f. *Stratum papillaris*

Lapisan ini tersusun lebih longgar, ditandai dengan adanya papila dermis dan dibawahnya terdapat serat-serat kolagen yang tersusun rapat. Sebagian besar papila mengandung pembuluh-pembuluh kapiler yang memberi nutrisi pada epitel diatasnya.

g. *Stratum retikularis*

Stratum retikularis merupakan lapisan yang tebal dan dalam. Lapisan ini memiliki berkas-berkas kolagen kasar dan sejumlah kecil serat elastin yang membentuk jaringan padat ireguler. Terdapat juga jaringan lemak, kelenjar keringat, kelenjar sebacea dan folikel rambut pada stratum retikularis (Kalangi, 2013).

2.1.2 Fungsi Kulit

Kulit memiliki fungsi diantaranya adalah sebagai berikut:

- Pencegahan kehilangan cairan tubuh dan melindungi dari masuknya zat-zat kimia beracun dan mikroorganisme

Stratum korneum berperan penting dalam mencegah kehilangan cairan dari tubuh. *Stratum korneum*, lemak interseluler dan sel-sel nya saling tumpang tindih untuk menghalangi terjadinya difusi air keluar tubuh. *Stratum korneum* juga merupakan sawar (rintangan) yang sangat efektif terhadap penetrasi dari luar. Namun demikian, kemampuannya sebagai sawar akan sangat berkurang bila kadar airnya dinaikkan atau bila lemak yang dikandungnya dikurangi dengan menggunakan pelarut lemak. Ketuhan *stratum korneum* dapat melindungi tubuh terhadap adanya invasi mikroorganisme (Brown, 2005).

- Fungsi Imunitas

Kulit tidak hanya berfungsi sebagai penghalang fisik, tetapi juga sebagai kekebalan tubuh yang aktif. Lapisan epidermis dilengkapi dengan sel imun seperti sel Langerhans yang berperan layaknya makrofag sebagai pertahanan garis terdepan dalam melawan

mikroorganisme yang masuk. Selain itu sel Langerhans juga berperan menyajikan antigen kepada limfosit-limfosit yang imunokompeten sehingga respon imun dapat meningkat. Sel langerhans tersebar diantara stratum spinosum. Sel-sel dendrit ini merupakan modifikasi dari makrofag, yang berasal dari sumsum tulang dan bermigrasi ke epidermis (Brown, 2005).

- Melindungi dari kerusakan akibat radiasi UV dan pengatur suhu tubuh

Melanin yang terdapat pada stratum basale melindungi inti sel pada epidermis terhadap pengaruh buruk dari radiasi UV. Kulit merupakan bagian penting dari sistem pengaturan suhu tubuh. Suhu inti tubuh diatur oleh sebuah area di hipotalamus yang sensitive terhadap suhu dan area ini dipengaruhi oleh suhu darah yang mengalirinya. Respon kulit terhadap keadaan dingin adalah dengan vasokonstriksi dan banyak mengurangi aliran darah sehingga akan mengurangi transfer panas ke permukaan tubuh. Sedangkan respon terhadap panas adalah vasodilatasi, peningkatan aliran darah dan pelepasan panas keluar tubuh (Brown, 2005).

2.2 Luka Bakar

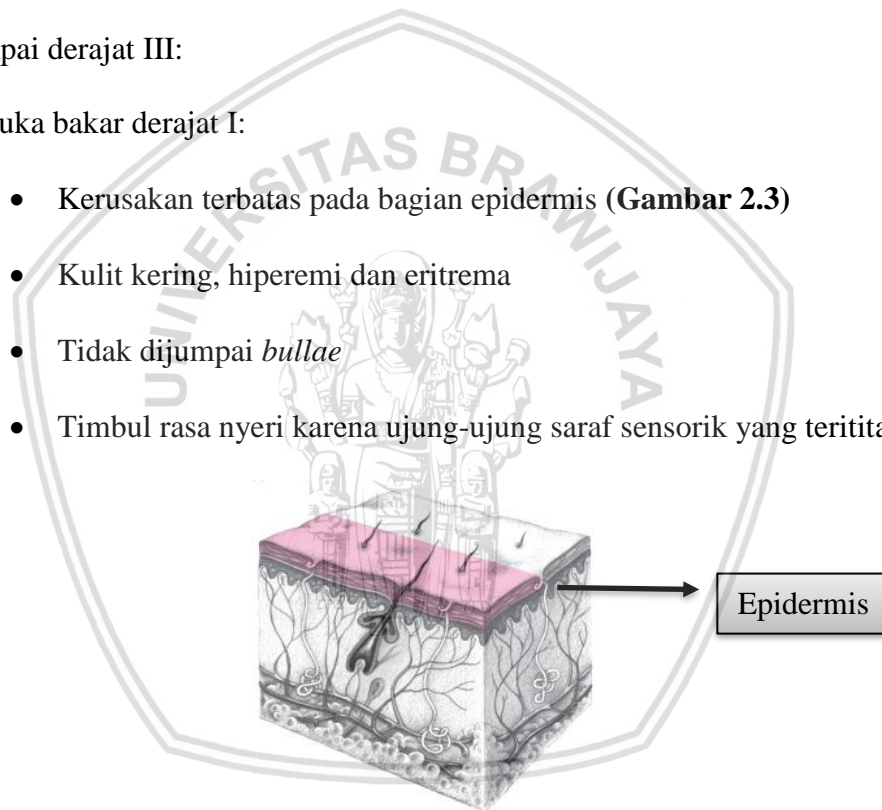
Luka bakar merupakan suatu kondisi kerusakan atau hilangnya jaringan kulit akibat adanya kontak dengan sumber panas. Sumber panas dapat berupa api, air panas, bahan-bahan kimia, dan radiasi (Morison, 2004). Berdasarkan kedalamannya, luka bakar dibagi menjadi tiga derajat. Derajat pertama luka bakar hanya mempengaruhi epidermis. Luka bakar derajat I biasanya disebabkan oleh sengatan sinar matahari (*sunburn*). Sedangkan luka bakar

derajat II dibagi menjadi II tingkat yakni derajat II a (*superficial*) dan derajat II b (*deep*). Pada luka bakar derajat dua superficial hanya mempengaruhi epidermis dan dermis papiler sedangkan pada luka bakar derajat II b mempengaruhi epidermis dan dermis retikuler. Kemudian luka bakar derajat III menyebabkan kerusakan pada lapisan epidermis, dermis dan muskulus (Moenadjat, 2003).

Berikut tanda-tanda klinis yang diakibatkan oleh luka bakar derajat I sampai derajat III:

a. Luka bakar derajat I:

- Kerusakan terbatas pada bagian epidermis (**Gambar 2.3**)
- Kulit kering, hiperemi dan eritema
- Tidak dijumpai *bullae*
- Timbul rasa nyeri karena ujung-ujung saraf sensorik yang teriritasi



Gambar 2.3 Luka bakar derajat I (DeSanti, 2005)

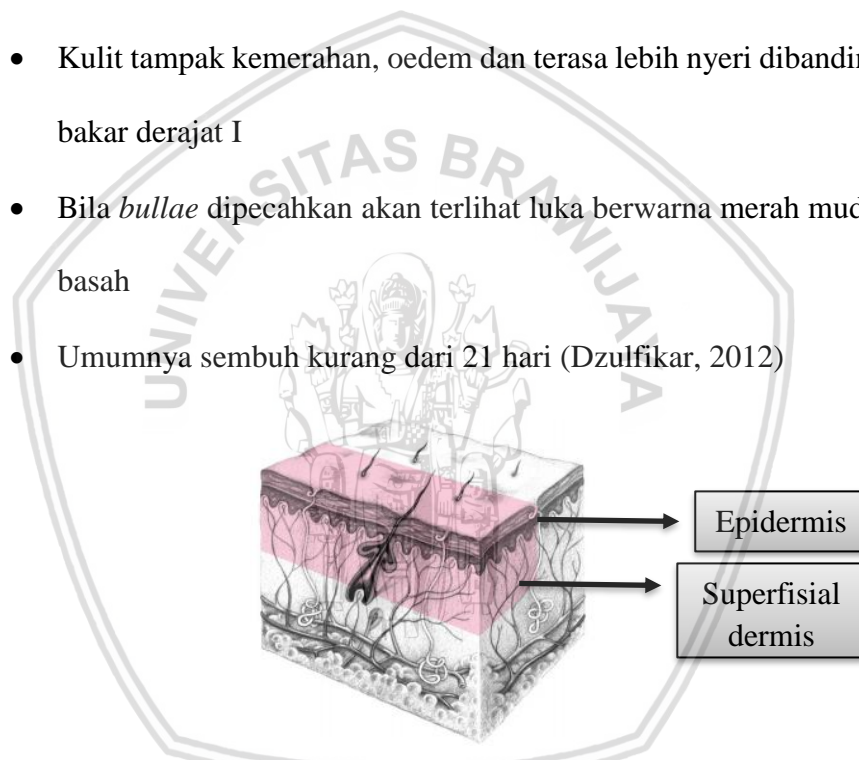
b. Luka bakar derajat II

Kerusakan meliputi epidermis dan sebagian dermis, berupa reaksi inflamasi akut disertai proses eksudasi. Pada luka bakar derajat II dijumpai *bullae* dan dasar luka yang tampak berwarna merah pucat. Luka bakar tipe ini

dibedakan menjadi 2 yakni luka bakar derajat II a (*superficial*) dan luka bakar derajat II b (*deep*) (Rahayuningsih, 2012).

- Luka bakar derajat IIa (*superficial*):

- Kerusakan mengenai epidermis dan bagian superfisial dari dermis
(Gambar 2.4)
- Organ-organ kulit seperti folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar sebacea masih utuh
- Kulit tampak kemerahan, oedem dan terasa lebih nyeri dibanding luka bakar derajat I
- Bila *bullae* dipecahkan akan terlihat luka berwarna merah muda yang basah
- Umumnya sembuh kurang dari 21 hari (Dzulfikar, 2012)



Gambar 2.4 Luka bakar derajat IIa (DeSanti, 2005)

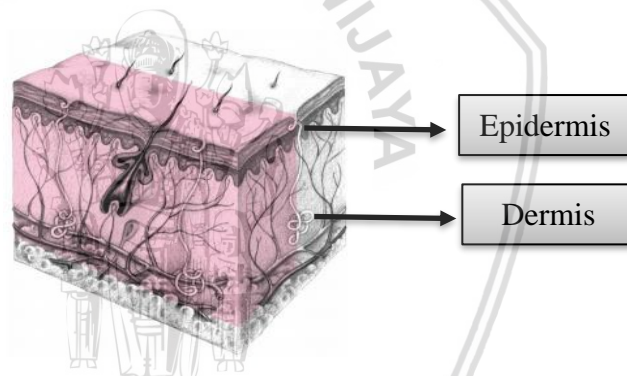
- Luka bakar derajat IIb (*deep*):

- Kerusakan pada hampir seluruh bagian dermis
- Organ-organ kulit seperti folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar sebacea masih utuh
- Dijumpai bullae

- Permukaan luka akan tampak berwarna merah muda dan putih karena vaskularisasi pembuluh darah di daerah luka

c. Luka bakar derajat III

- Kulit nampak hitam dan kering
- Kerusakan meliputi kulit, lemak subkutis, otot dan tulang (**Gambar 2.5**)
- Tidak dijumpai *bullae*, folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar sebacea mengalami kerusakan
- Rasa sakit kadang tidak terlalu terasa dikarenakan ujung-ujung saraf dan pembuluh darah yang sudah hancur (Moenadjat, 2003).

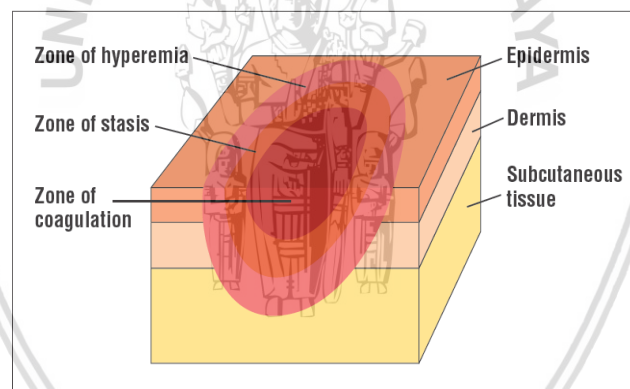


Gambar 2.5 Luka bakar derajat III (DeSanti, 2005)

2.3 Patofisiologi Luka Bakar

Kulit memiliki struktur laminar yang tersusun oleh epidermis yang merupakan lapisan paling luar, dan dermis pada bagian dalam. Lapisan dermis terdiri dari folikel rambut, kelenjar keringat dan kelenjar sebacea. Cedera kulit akibat kontak dengan sumber panas akan menyebabkan kerusakan baik lokal maupun sistemik. Pada efek lokal dikenal adanya zona luka bakar yang dibagi berdasarkan tingkat kerusakan jaringan yaitu:

- a. Zona koagulasi, terdiri dari jaringan nekrosis yang membentuk eskar akibat koagulasi protein dari cedera panas. Zona ini berlokasi ditengah luka bakar pada area yang berkontak langsung dengan sumber panas.
- b. Zona statis, area yang langsung berada diluar zona koagulasi. Pada area ini terjadi kerusakan endotel disertai kerusakan trombosit dan leukosit serta perubahan permeabilitas kapiler dan respon inflamasi lokal yang beresiko terjadinya iskemia jaringan. Pada zona ini memungkinkan terjadinya nekrosis atau hiperemis.
- c. Zona hiperemis, yakni area yang terdiri dari kulit normal dengan cedera sel yang ringan. Area ini mengalami reaksi berupa vasodilatasi serta peningkatan sirkulasi (Hettiaratchy dan Dziewulski, 2004).



Gambar 2.6 Zona luka bakar (Byers, 2011)

Efek sistemik yang ditimbulkan dari luka bakar yaitu terjadi peningkatan permeabilitas kapiler pada daerah luka. Akibat dari peningkatan permeabilitas kapiler pada daerah luka menyebabkan cairan plasma keluar dari kapiler menuju ke ruang interstisial. Peningkatan permeabilitas kapiler dan kebocoran plasma ini akan muncul dalam 8 jam pertama hingga 48 jam. Setelah 48 jam, kemudian akan terjadi penormalan dari permeabilitas kapiler akibat proses hemostatis atau proses penghentian darah secara alami (Tiwari, 2012).

2.4 Proses Penyembuhan Luka Bakar

Seluruh proses penyembuhan luka adalah rangkaian kejadian yang dimulai pada saat cedera dan bisa berlanjut selama berbulan-bulan hingga bertahun-tahun. Penyembuhan pada semua jenis luka termasuk luka bakar melalui empat fase yaitu hemostasis, inflamasi, proliferasi, maturasi atau *remodeling*.

a. Fase Hemostasis

Fase hemostasis terjadi sesaat setelah luka, dikarenakan luka yang menembus kulit mengakibatkan rusaknya pembuluh darah sehingga terjadi pendarahan. Hemostasis adalah proses fisiologis alami yang dilakukan oleh tubuh untuk menghentikan perdarahan tersebut. Respon awal tubuh apabila terjadi perdarahan oleh luka adalah vasokonstriksi. Vasokonstriksi adalah penyempitan pembuluh darah sehingga dapat meminimalisir pendarahan oleh luka. Fase hemostasis juga melibatkan platelet atau trombosit dan pembentukan fibrin plug. Ketika ada luka yang mengakibatkan pendarahan, platelet atau trombosit akan teraktivasi dan saling melekat satu sama lain pada daerah luka membentuk sumbatan trombosit. Namun, kerusakan terhadap pembuluh darah mengakibatkan pemajanan serabut-serabut kolagen yang ada di bawahnya. Kontak antara trombosit dengan jaringan kolagen yang terpajan akan memicu pelepasan sejumlah faktor trombosit seperti ADP, serotonin dan faktor koagulasi 3 yang dapat menstimulasi agregasi trombosit lebih lanjut sehingga dapat memperkecil pendarahan. Platelet menghasilkan protrombin yang akan menjadi trombin dan selanjutnya akan mengkatalis fibrinogen menjadi fibrin dalam

pembentukan sumbatan fibrin sehingga menjadi sumbatan yang lebih stabil (Morison, 2004).

b. Fase Inflamasi

Fase inflamasi dimulai dari hari pertama hingga hari ke-5 pasca cedera. Tujuan dari reaksi inflamasi adalah membunuh mikroorganisme yang mengkontaminasi luka. Reaksi pertama ditandai dengan bertambah besarnya diameter vascular akibat sekresi histamin dan prostaglandin dari sel mast, sehingga meningkatkan aliran darah pada area luka. Hal ini menyebabkan area luka panas dan kemerahan. Kejadian ini akan menurunkan kecepatan aliran darah pada pembuluh darah kecil. Reaksi kedua adalah dengan meningkatnya ekspresi molekul adhesi pada sel endotel pembuluh darah. Peningkatan ekspresi molekul adhesi pada sel-sel endotel akan memudahkan melekatnya sel-sel leukosit untuk menempel pada dinding-dinding endotel. Kombinasi antara ekspresi molekul adhesi dan lambatnya aliran darah pada pembuluh kecil memberi kesempatan leukosit menempel pada sel endotel dan bermigrasi ke jaringan yang rusak, proses ini dikenal dengan *extravasation* (Gurtner, 2007).

Sel yang pertama kali terekrut ke daerah inflamasi adalah neutrofil. Lalu diikuti oleh monosit dan setelah berada di dalam jaringan, monosit akan segera berdiferensiasi menjadi makrofag. Neutrofil muncul sesaat setelah terjadi luka dan mencapai jumlah puncaknya dalam waktu 24 sampai 48 jam. Tugas dari neutrofil adalah fagositosis agen patologis dan jaringan yang mati. Setelah melakukan fungsi fagositosis dan tidak ada infeksi lagi, neutrofil akan difagositosis oleh makrofag. Makrofag muncul

pada 48-96 jam setelah terjadi luka. Seperti halnya neutrofil, makrofag melakukan fagositosis bakteri dan jaringan yang mati, selain itu makrofag juga mensekresi beberapa sitokin serta *growth factor* yang menginisiasi proliferasi sel dan angiogenesis (Abbas *et al.*, 2017).

c. Fase Proliferasi

Fase proliferasi terjadi pada hari ke-5 pasca terjadinya luka. Pada fase ini sel-sel inflamasi jumlahnya mulai menurun, tanda-tanda inflamasi seperti kemerahan atau bengkak juga mulai tidak terlihat, muncul sel fibroblast yang berproliferasi, membentuk pembuluh darah baru (angiogenesis), epitelisasi (pembentukan epitel) dan *wound contraction* (penguatan daerah luka). Fase proliferasi ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi yang tersusun dari kumpulan fibroblas, makrofag dan sel endotel. Jaringan granulasi menggantikan matriks fibrin yang sebelumnya didominasi oleh platelet dan makrofag (Sabiston, 2008).

Makrofag memproduksi *growth factor* seperti PDGF dan TGF- β yang berfungsi untuk menginduksi proliferasi, migrasi dan pembentukan matriks ekstraseluler oleh fibroblas. Fibroblas mencerna matriks fibrin dan menggantikannya dengan *glycosaminoglican* (GAG) dengan bantuan *matrix metalloproteinase* (MMP). Matriks ekstraseluler akan digantikan oleh kolagen tipe III yang juga diproduksi oleh fibroblas seiring waktu. Kolagen merupakan komponen yang tersusun atas 33% glisin, 25% hidroksiprolin dan senyawa lain seperti air, glukosa dan galaktosa, kemudian kolagen tipe III akan digantikan dengan kolagen tipe I pada fase maturasi Schultz (2007). Kolagen tersebut akan bertambah banyak dan

menggantikan matriks fibrin sebagai penyusun matriks utama luka (Tommila, 2010).

Proses angiogenesis ditandai dengan migrasi dan pertumbuhan sel endotel yang diatur oleh faktor pertumbuhan seperti *vascular endothelial growth factor* (VEGF) *fibroblas growth factor* (FGF) dan *Transforming growth factor beta* (TGF- β) yang memicu terjadinya angiogenesis (pembentukan struktur pembuluh darah baru) (Gurtner, 2007). Kapiler-kapiler dibentuk oleh tunas endotelial. Pembentukan kapiler baru ini penting sebagai penyuplai oksigen dan makanan yang dibutuhkan oleh luka selama proses regenerasi jaringan (Kristianto, 2010).

Pada fase ini, terjadi epitelisasi atau pembentukan kembali lapisan kulit yang rusak. Fibroblas akan mengeluarkan *growth factor* salah satunya *Keratinocyte growth factor* (KGF) yang bertugas mengontrol pertumbuhan, menginduksi sekresi epitel dan maturasi keratinosit. Fase ini dimulai dari proliferasi keratinosit pada tepi luka setelah kontak dengan matriks ekstraseluler. Setelah itu keratinosit bermigrasi dari membran basal menuju ke permukaan yang baru terbentuk (Sumbayak, 2016).

Wound contraction (kontraksi luka) merupakan proses terakhir pada fase proliferasi. Sel yang bertanggung jawab pada kontraksi luka adalah miofibroblas. Miofibroblas berasal dari fibroblas luka. Miofibroblas merupakan sel mesenkim dengan fungsi dan karakteristik struktur seperti fibroblas dan sel otot polos. Sel tersebut merupakan komponen seluler jaringan granulasi atau jaringan parut yang dapat membangkitkan tenaga kontraktile. Miofibroblas mampu membuat tepian luka mengalami kontraksi

dan saling tarik menarik sehingga terjadi penebalan jaringan dibagian luka dan luas luka akan berkurang (Prasetyono, 2009).

d. Fase Maturasi atau *Remodelling*

Fase maturasi atau *Remodelling* terjadi pada hari ke-21 hingga 1 tahun pasca terjadinya luka. Fase ini dimulai ketika kavitas luka terisi oleh jaringan granulasi dan proses re-epitelisasi selesai. Vaskularisasi akan menurun dan bekas kemerahan pada luka secara perlahan hilang. Pada fase ini akan terjadi kontraksi dari luka dan *remodelling* kolagen. Kolagen pada awalnya tersusun secara tidak beraturan sehingga memerlukan *lysyl hydroxylase* untuk mengubah lisin menjadi hidroksilisin yang dianggap berperan dalam terjadinya *cross-linking* antar kolagen. Adanya *cross-linking* menyebabkan terjadinya *tensile strength* sehingga integritas kulit menguat dan tidak mudah terkoyak lagi. *Tensile strength* akan bertambah secara cepat pada 6 minggu pertama, dan akan terus bertambah secara perlahan hingga 1-2 tahun. Umumnya, *tensile strength* pada kulit dan *fascia* setelah luka dapat mencapai hingga 80% dari normal (Schultz, 2007).

Kolagen yang berlebih akan didegradasi oleh enzim kolagenase lalu diserap. MMP akan menginisiasi pergantian kolagen tipe III dengan kolagen tipe I sehingga kekuatan tahanan luka akan meningkat. Kolagen tipe I memiliki bentuk kumpulan kecil paralel teratur yang lebih rapat dibandingkan dengan kolagen tipe III yang tidak teratur. Proses akhir fase ini akan terbentuk jaringan parut yang pucat, tipis, lemas dan mudah digerakkan (Prasetyono, 2009).

2.5 Transforming Growth Factor Beta (TGF- β)

Transforming Growth Factor Beta (TGF- β) merupakan sitokin multifungsi yang memainkan peran sentral dalam penyembuhan luka dan perbaikan jaringan. TGF- β ditemukan di semua jaringan, tetapi sangat melimpah di tulang, paru-paru, ginjal dan jaringan plasenta. Peran utama TGF- β dalam sistem kekebalan tubuh adalah menghambat proliferasi, aktivasi limfosit dan leukosit lainnya. Selain itu TGF- β juga bertindak pada sel lain, seperti pada neutrofil dan sel endotel, sebagian besar untuk melawan efek sitokin proinflamasi. TGF- β disekresikan oleh berbagai jenis sel dalam tubuh yang berpartisipasi dalam proses perbaikan luka seperti limfosit, monosit atau makrofag, sel endotel, sel-sel otot polos dan fibroblast (Branton and Kopp, 1999).

Faktor pertumbuhan ini memiliki peran penting dalam setiap fase penyembuhan luka. Pada fase inflamasi, TGF- β berperan sebagai sitokin antiinflamasi, menghambat proliferasi, aktivasi limfosit dan leukosit lainnya oleh sitokin pro-inflamasi sehingga reaksi inflamasi dapat berlangsung cepat. Sedangkan pada fase proliferasi, TGF- β berkerja dengan memicu angiogenesis dan menstimulasi fibroblas untuk berproliferasi, mensintesis kolagen sebagai komponen matriks ekstraseluler yang penting dalam kesembuhan luka (Faler, 2006).

2.6 Sediaan Gel Ekstrak Placenta

Obat topikal yang biasa digunakan dalam terapi luka bakar memiliki kandungan ekstrak plasenta 10% dan neomisin sulfat 0,5%. Ekstrak plasenta bekerja membentuk jaringan baru dengan meningkatkan TGF- β dan VEGF

pada fase akhir kesembuhan luka sehingga dapat menstimulasi regenerasi sel (Gupta *et al.*, 2016). Sedangkan neomisin sulfat merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang bekerja dengan cara mengikat sub unit 30s dari ribosom bakteri sehingga menghambat sintesa protein yang pada akhirnya menghambat pertumbuhan bakteri tersebut (Koch *et al.*, 2012). Plasenta kaya akan materi pembentuk kolagen, molekul bioaktif seperti enzim, asam nukleat, vitamin, asam amino, steroid, asam lemak, dan mineral (Park, 2010).

2.7 Virgin Coconut Oil (VCO)

Virgin Coconut Oil (VCO) adalah minyak kelapa murni yang terbuat dari bahan baku kelapa segar yang tua, diproses dengan pemanasan terkendali atau tanpa pemanasan sama sekali dan tanpa bahan kimia (Winarti, 2007). Karakteristik dari VCO diantaranya jernih, tidak berwarna dan memiliki aroma yang segar. VCO memiliki kandungan yang berkhasiat untuk kesehatan.

Berikut taksonomi dari buah kelapa:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub division	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Plante
Familia	: Palmae
Genus	: Cocos
Spesies	: <i>Cocos nucifera</i>



Gambar 2.7 Buah kelapa

Secara kimiawi, VCO (**Gambar 2.7**) terbentuk dari rantai karbon, hidrogen dan oksigen yang disebut asam lemak. Asam lemak yang paling banyak terkandung dalam *Virgin Coconut Oil* (VCO) adalah asam laurat (*Lauric Acid*). Menurut Asyari dan Bambang (2006), komponen utama VCO berdasarkan analisis standar komposisi asam-asam lemak yaitu asam laurat (43–53%), asam miristat (16–21%), asam palmitat (7,5–10%), asam kaprat (4,5–8,0%), asam oktanoat/kaprilat (5–10%), asam oleat (4–10%), asam stearat (2–4%), asam linoleat (1-2,5%) dan asam kaproat (0,4–0,6%). *Virgin Coconut Oil* (VCO) juga mengandung *tokoferol* yang dapat berfungsi sebagai antioksidan alami dengan mencegah adanya reaksi oksidasi (Alamsyah, 2005).

Asam laurat yang masuk kedalam tubuh akan diubah menjadi monolaurin yaitu sebuah senyawa monogliserida yang bersifat antivirus dan antibakteri. Monolaurin mampu melarutkan membran virus berupa lipid sehingga akan mengganggu kekebalan virus yang pada akhirnya virus inaktif. Sedangkan sifat antibakteri VCO bekerja dengan merusak membran sel bakteri (Silalahi *and* Surbakti, 2015).

2.8 Hewan Coba Tikus (*Rattus norvegicus*)

Hewan laboratorium atau hewan percobaan adalah hewan yang sengaja dipelihara dan diternakkan untuk dipakai sebagai hewan model guna mempelajari dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorium. Tikus termasuk hewan mamalia, oleh sebab itu dampaknya terhadap suatu perlakuan mungkin tidak jauh berbeda dibanding dengan mamalia lainnya. Selain itu, penggunaan tikus sebagai hewan percobaan juga didasarkan atas pertimbangan ekonomis dan kemampuan hidup tikus yang hanya 2-3 tahun (Maley, 2003).

Persamaan bentuk, fungsi organ dan proses biokimia antara tikus putih dan manusia menjadikan dasar dalam pemilihan hewan model agar hasil dari penelitian dapat diaplikasikan ke manusia. Tikus putih yang digunakan berjenis kelamin jantan sebab lebih mudah ditangani dan dipelihara. *Rattus norvegicus* memiliki ciri antara lain rambut tubuh berwarna putih dan mata yang merah, panjang tubuh total 440 mm, dan panjang ekor 205 mm. Berat dewasa rata-rata 200-250 gram tergantung galur (Mark *et al.*, 2005)

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut:
(Mark *et al.*, 2005)

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Odontoceti
Familia	: Muridae
Genus	: Rattus
Species	: <i>Rattus norvegicus</i>

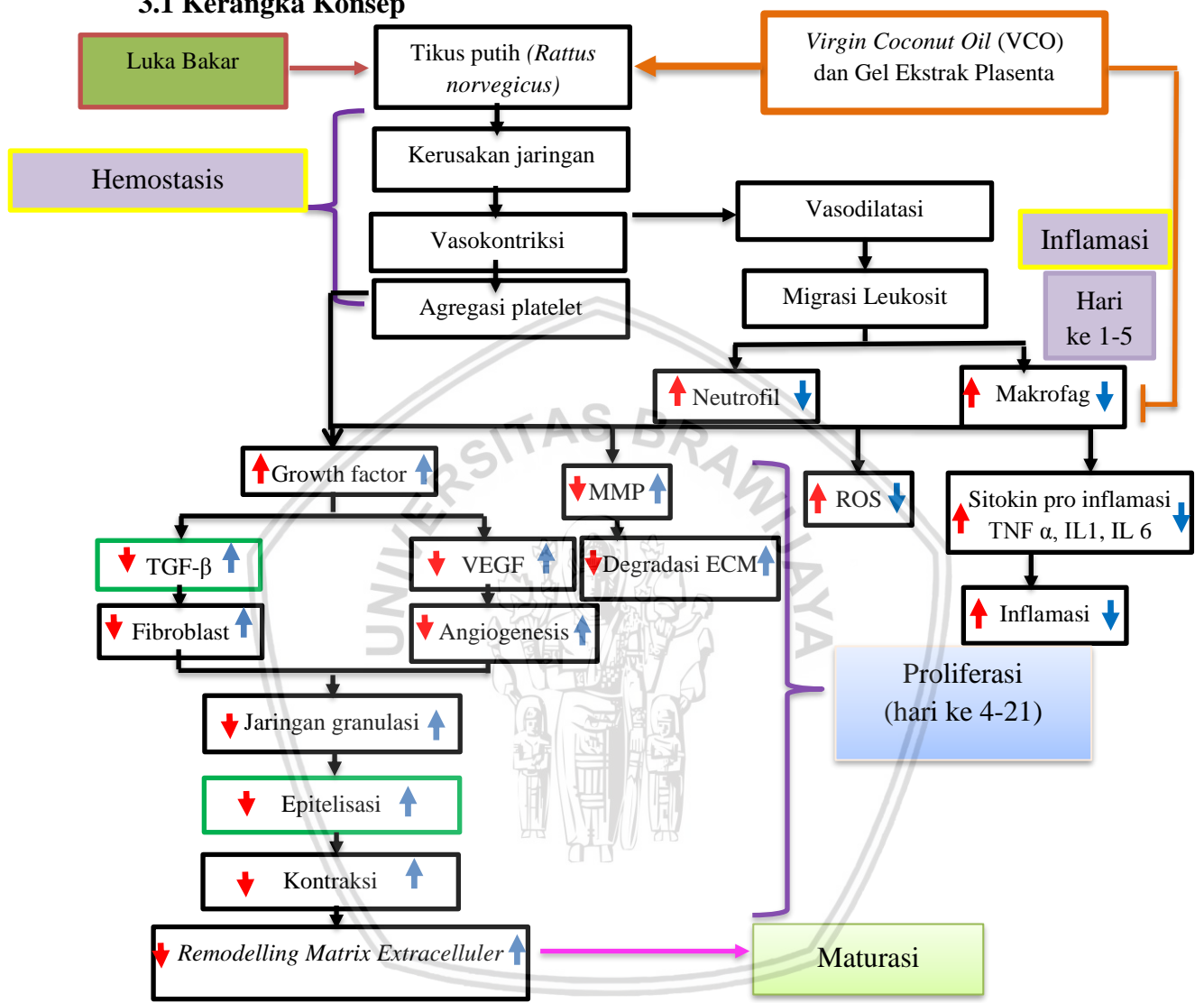


Gambar 2.8 Tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Rambut pada tubuh tikus putih (**Gambar 2.8**) yang tidak terlalu tebal membuat tikus memiliki beberapa kelebihan dalam penelitian model perlukaan luka bakar. Pertama, rambut yang tidak tebal akan memudahkan pemisahan epidermis dan dermis; kedua, rambut yang tidak tebal akan memudahkan penilaian efek dari bahan farmakologi dalam proses penyembuhan luka. Perlakuan model luka bakar derajat II b bakar pada tikus dimulai dengan mencukur rambut tikus bagian flank sampai habis dengan luas 2x2 cm kemudian area yang akan dibuat luka bakar didesinfeksi memakai alkohol 70%. Anestesi pada tikus berupa anestesi umum dengan memakai ketamin HCl 10% dan Xylazine 2% secara intramuskular. Pembuatan luka bakar menggunakan solder listrik yang telah dipanaskan selama 5 menit dan ditempelkan pada area yang akan dibuat luka selama 5-10 detik sampai terbentuk luka bakar derajat II B. Luka bakar derajat II B ditandai dengan perubahan warna kemerahan dan terbentuknya *bullae* (gelembung air) pada kulit (Balqis dkk, 2014).

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan gambar

- :Induksi luka bakar
- : Terapi VCO dan obat topikal
- \downarrow :Jalur di dalam tubuh tikus
- $\uparrow\downarrow$: Efek Luka bakar
- $\uparrow\downarrow$:Efek terapi VCO dan obat topikal
- \perp : Menghambat
- : Variabel terikat

Luka bakar adalah rusaknya kesatuan atau komponen jaringan yang disebabkan adanya kontak sumber panas dengan kulit. Ketika terjadi luka, tubuh akan melakukan serangkaian proses penyembuhan luka. Proses penyembuhan luka merupakan proses alami dalam tubuh yang terdiri dari fase hemostasis, inflamasi, proliferasi dan maturasi atau *remodeling*. Fase pertama dalam penyembuhan luka adalah fase hemostasis, terjadi 5-10 menit pasca luka yang ditandai dengan vasokonstriksi pembuluh darah guna memperlambat aliran darah sehingga dapat meminimalisir darah yang keluar. Setelah itu akan terjadi agregasi platelet dibawah pengaruh dari *adenosine diphosphate* (ADP). Agregasi platelet akan membentuk sumbat trombosit dan platelet juga mensekresikan faktor yang dapat menstimulasi produksi trombin yang mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Fibrin akan merekatkan agregasi platelet sehingga menjadi *hemostatic plug* yang stabil.

Setelah terjadi fase hemostasis, proses selanjutnya adalah fase inflamasi yang berfungsi untuk menghilangkan jaringan mati dan membunuh bakteri yang mengkontaminasi luka. Fase inflamasi terjadi pada hari ke 1-4 pasca terjadi luka, dimulai dari sel mast yang teraktivasi dalam merespon mikroba atau jaringan yang rusak. Granula sel mast mengandung amine vasoaktif seperti histamin yang menyebabkan vasodilatasi pembuluh darah. Akibat dari vasodilatasi pembuluh darah area sekitar luka mengalami kebengkakan. Selain itu timbul rasa nyeri yang disebabkan oleh kinin terutama bradikinin yang merupakan mediator nyeri yang merangsang saraf-saraf perifer disekitar radang sehingga timbul rasa nyeri. Vasodilatasi pembuluh darah menyebabkan migrasi

dari cairan plasma dan sel-sel radang atau leukosit ke area luka. Neutrofil merupakan leukosit yang muncul pertama kali dan melakukan fagositosis. Pada hari ke-3, monosit akan muncul dan berubah menjadi makrofag. Makrofag aktif dalam melawan infeksi oleh bakteri patogen dan memproduksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , IL-1 dan IL-6 sehingga inflamasi terjadi. Makrofag juga menghasilkan ROS untuk membantu mengeliminasi bakteri. Fase inflamasi terjadi kurang lebih satu hingga lima hari. Pada akhir fase inflamasi, makrofag akan menghasilkan *growth factor* seperti TGF- β dan VEGF yang akan menstimulasi terjadinya proliferasi dengan menarik fibroblast ke area luka dan membentuk jaringan yang baru.

Pemberian terapi yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi pemberian *Virgin Coconut Oil* (VCO) dan Gel Ekstrak plasenta. Gel Ekstrak plasenta memiliki kandungan ekstrak plasenta 10% dan neomisin sulfat 0,5%. Ekstrak plasenta bekerja dengan membentuk jaringan baru dan neomisin sulfat sebagai antibiotik yang memiliki aktivitas bakteriosid mampu mencegah infeksi bakteri dengan menghambat sintesa protein bakteri. Sedangkan pemberian terapi *Virgin Coconut Oil* (VCO) dapat mempercepat proses penyembuhan luka karena bersifat sebagai antibakteri, antiinflamasi dan antioksidan. Kandungan asam laurat yang terdapat dalam VCO berperan sebagai antibakteri. Ketika asam laurat masuk dan diserap ke dalam tubuh, lalu dipecah oleh enzim lipase menjadi monolaurin. Monolaurin berinteraksi dengan dinding sel dan membran sel bakteri, kemudian akan merusak barrier pada struktur membran bakteri.

Asam laurat juga berkaitan dengan peningkatan aktivitas TGF- β . Ketika TGF- β meningkat maka akan mempercepat proliferasi fibroblast, menstimulasi kolagen dalam membentuk kekuatan luka. Kandungan bahan aktif lain yang terdapat pada VCO adalah *phytosterol*. *Phytosterol* sebagai senyawa anti-inflamasi yang mampu menghambat jalur *cyclooxygenase* pada siklus asam arakhidonat dan menyebabkan penurunan pelepasan mediator radang serta meminimalisasi migrasi dari sel leukosit. Penurunan migrasi sel leukosit terutama makrofag akan menurunkan produksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α dan meningkatkan produksi *growth factor* seperti TGF- β . *Tokoferol* pada VCO berfungsi sebagai antioksidan dengan mencegah terjadinya oksidasi yang memicu kerusakan sel akibat oksigen perusak, lipid peroksida atau radikal bebas. *Tokoferol* memiliki cincin fenol yang mampu memberikan ion hidrogenya kepada radikal bebas sehingga mencegah adanya reaksi oksidasi.

Pada fase proliferasi, makrofag mensekresikan *growth factor* TGF- β yang merangsang proliferasi dan aktivasi fibroblas untuk bermigrasi menuju area jaringan sekitar luka. Fungsi utama fibroblas adalah sintesis kolagen sebagai komponen utama ECM. *Growth factor* TGF- β dan VEGF juga akan memicu terjadinya angiogenesis atau perbaikan pembuluh darah dengan menstimulasi sel endotel untuk membentuk neovaskuler. Kapiler-kapiler dibentuk oleh tunas endothelial. Pembentukan kapiler baru ini penting sebagai penyuplai oksigen dan makanan yang dibutuhkan oleh luka selama proses regenerasi jaringan. Setelah proses angiogenesis, terjadi epitelisasi atau pembentukan kembali lapisan kulit yang rusak. Epitelisasi dimulai dari

proliferasi keratinosit pada tepi luka setelah kontak dengan matriks ekstraseluler lalu bermigrasi dari membran basal menuju ke permukaan yang baru terbentuk.

Setelah itu terjadi *Wound contraction* (kontraksi luka) yang merupakan proses terakhir pada fase proliferasi. Sel yang bertanggung jawab pada kontraksi luka adalah miofibroblas yang berasal dari fibroblas luka. Miofibroblas merupakan komponen seluler jaringan granulasi atau jaringan parut yang dapat membangkitkan tenaga kontraktile. Miofibroblas mampu membuat tepian luka mengalami kontraksi dan saling tarik menarik sehingga terjadi penebalan jaringan dibagian luka dan luas luka akan berkurang. *Remodelling* ditandai dengan degradasi kolagen yang berlebih oleh MMP dan MMP akan menginisiasi pergantian kolagen tipe III dengan kolagen tipe I sehingga kekuatan tahanan luka akan meningkat.

3.2 Hipotesa Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dijabarkan, maka hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pemberian VCO secara topikal memberikan respon yang berbeda dengan gel ekstrak plasenta terhadap peningkatan ekspresi TGF- β pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi luka bakar derajat II b.
2. Pemberian VCO secara topikal memberikan respon yang berbeda dengan gel ekstrak plasenta terhadap gambaran histopatologi kulit pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi luka bakar derajat II b

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2018 hingga Maret 2018.

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan di beberapa laboratorium, diantaranya:

1. Pemeliharaan hewan coba dan pemberian perlakuan hewan coba di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Pembuatan sediaan salep VCO (*Virgin Coconut Oil*) dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Pembuatan preparat imunohistokimia TGF- β dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
4. Pembuatan preparat histopatologi kulit dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Kesima Medika Malang.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kandang tikus, botol minum tikus, sekam, sarung tangan (*glove*), *underpad*, peralatan bedah/dissecting set (scalpel blade, pinset anatomis, pinset chirurgis, gunting tajam-tumpul), spuit 1 mL, solder listrik, pot organ, *object glass*, timbangan, mortar, pot organ dan mikroskop.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, makanan dan minuman tikus, VCO dengan standar SNI 7381:2008, obat topikal dengan sediaan gel ekstrak plasenta, *adepts lanae*, alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%), NaCl fisiologis, pewarna Hematoksilin Eosin (HE), jaringan kulit tikus, aquades, parafin, xylol, formalin

10%, PBS, H₂O₂ 3%, *Bovine Serum Albumin* (BSA) 1%, *Strep Avian Horse Radish Peroxidase* (SA-HRP), kromagen, parafin cair, etanol 96%, ketamin HCL 1%, Xylazine 2%, dan antibodi TGF- β .

4.3 Sampel Penelitian

Hewan model pada penelitian ini menggunakan tikus (*Rattus novergicus*) jantan strain Wistar umur 75-90 hari dengan berat 150-200 gram (Kusuma dkk, 2014). Hewan coba diaklimatisasi selama tujuh hari untuk menyesuaikan dengan kondisi di laboratorium. Estimasi besar sampel dihitung berdasarkan rumus (Montgomery dan Kowalsky, 2011) :

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

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

$$2n - 2 \geq 15$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq 8,5$$

Keterangan:

p : jumlah perlakuan

n : jumlah ulangan yang diperlukan

berdasarkan perhitungan berikut, maka untuk 2 kelompok perlakuan diperlukan jumlah ulangan paling sedikit 9 kali dalam setiap perlakuan sehingga dibutuhkan setidaknya 18 ekor hewan coba.

4.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik menggunakan *post test only two group experimental design*. Pada penelitian ini subyek dibagi menjadi 2 kelompok secara random dan tiap kelompok terdiri dari 9 tikus. Kelompok perlakuan pada penelitian ini antara lain:

Tabel 4.1. Rancangan Penelitian

Kelompok	Perlakuan
P1	Luka bakar derajat II b + Salep VCO
P2	Luka bakar derajat II b + Gel Ekstrak plasenta

4.5 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

- Variabel bebas : Luka bakar derajat II b dan dosis terapi VCO dan ekstrak plasenta
- Variabel terikat : Gambaran histopatologi kulit dan ekspresi TGF- β pada luka bakar
- Variabel kontrol : Tikus (jenis kelamin, berat badan, umur), pakan, suhu dan kandang

4.6 Tahapan Penelitian

- 1). Persiapan hewan coba.
- 2). Persiapan VCO
- 3). Persiapan obat topikal sediaan gel ekstrak plasenta
- 4). Induksi luka bakar derajat II B pada hewan coba
- 5). Pemberian obat dan VCO secara topikal
- 6). Pengambilan Sampel Kulit
- 7). Pembuatan preparat histopatologi kulit
- 8). Pembuatan dan pengamatan Ekspresi TGF- β
- 9). Analisis Data

4.7 Prosedur Kerja

4.7.1 Persiapan Hewan Coba

Sebelum mendapatkan perlakuan, hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) diadaptasikan terlebih dahulu pada lingkungan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya selama 7 hari dengan pemberian pakan standar dan minum pada semua tikus. Tikus yang digunakan merupakan tikus jantan galur *Wistar* berumur 75-90 hari dengan berat badan 150-200 gram (Kusuma dkk, 2014). Tikus dibagi menjadi 2 kelompok, masing-masing kelompok terdiri 9 tikus. Pemeliharaan tikus dilakukan dalam kandang individu dengan jumlah 1 ekor tikus untuk setiap kandang. Pemberian pakan dan minum dilakukan sebanyak dua kali dalam sehari yaitu pada pagi dan sore hari, sedangkan untuk air minum diberikan secara *ad libitum*.

4.7.2 Persiapan dan Pembuatan salep VCO

Pada penelitian ini menggunakan VCO yang tersedia di pasaran. Produk VCO yang digunakan pada penelitian sesuai standar pada SNI 7381:2008 (**lampiran 4**). VCO diperoleh dari daging buah kelapa (*Cocos nucifera*) segar yang diproses melalui pemanasan atau tanpa pemanasan dan tanpa penambahan atau pengurangan apapun (Alamsyah, 2005). Minyak VCO diaplikasikan secara topikal dalam bentuk salep. Salep dibuat di awal penelitian untuk penggunaan 7 hari (**lampiran 5**). Konsentrasi VCO yang dipakai dalam penelitian ini adalah 70%. Pembuatan salep VCO dimulai dengan mempersiapkan bahan dasar salep dari adeps lanae. Prosedur pembuatan salep sebagai berikut:

- adeps lanae ditimbang dan dimasukkan ke dalam mortar
- minyak VCO ditambahkan dalam mortar

- kedua bahan dicampur hingga homogen hingga membentuk salep (Hastuti, 2017).

4.7.3 Persiapan Obat Topikal Sediaan Gel Ekstrak plasenta

Obat yang digunakan dalam penelitian ini merupakan obat topikal yang tersedia di pasaran, tersedia dalam bentuk gel dengan kandungan ekstrak plasenta 10% dan neomisin sulfat 0,5% (antibiotik). Informasi terkait sediaan obat dapat dilihat pada **lampiran 6**.

4.7.4 Induksi Luka Bakar Derajat II B Pada Hewan Coba

Tahap awal pembuatan luka bakar dilakukan dengan mencukur rambut pada area flank tikus dengan diameter 2x2 cm. Kemudian area yang akan dibuat luka didesinfeksi menggunakan alkohol 70%. Anestesi pada tikus menggunakan ketamin HCl 10% dosis 10 mg/kgBB dan Xylazine 2% dosis 2 mg/kgBB secara intramuskular (**lampiran 7**). Pembuatan luka bakar dengan menggunakan plat besi yang tersambung dengan solder listrik lalu dipanaskan selama 5 menit kemudian ditempelkan pada kulit tikus selama 10 detik (Kusuma dkk, 2014). Perlakuan ini membentuk luka bakar derajat II b yang ditandai terbentuknya bullae dan warna kemerahan (Moenadjat, 2003).

4.7.5 Pemberian Gel Ekstrak plasenta dan VCO secara Topikal

Obat topikal dalam bentuk sediaan gel ekstrak plasenta dan salep VCO diberikan 2 kali sehari pada pagi hari pukul 09.00 dan sore pukul 16.00 secara topikal selama 7 hari dengan dosis $\pm 0,1$ gram setiap olesan. Pemberian pertama dilakukan 10-15 menit setelah induksi luka bakar (Dewantari dkk, 2015).

4.7.6 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel kulit pada tikus dilakukan pada hari ke 15. Tikus dieutanasi dengan metode dislokasi leher. Langkah awal yaitu tikus diposisikan rebah dexter kemudian dilakukan pembedahan untuk mengisolasi kulit dengan cara eksisi sampai kedalaman subkutis. Kulit dibedah dengan dijepit memakai pinset lalu dipotong memakai gunting atau scalpel blade pada area kulit yang diinduksi luka bakar. Sampel kulit yang telah diisolasi dibagi menjadi dua bagian untuk pembuatan preparat histologi dan sampel untuk pembuatan Imunohistokimia. Sampel disimpan dalam formalin 10% pada pot organ (Febram dkk, 2010)

4.7.7 Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit

Pembuatan preparat histologi dilakukan setelah sampel jaringan kulit difiksasi dalam larutan Formalin 10% selama 18-24 jam. Setelah proses fiksasi, jaringan dimasukkan dalam larutan aquades selama 1 jam agar larutan fiksasi hilang. Fiksasi bertujuan sebagai pengawet jaringan dan menghambat proses pembusukan, serta untuk mempertahankan sel atau jaringan agar tidak mengalami perubahan bentuk maupun ukuran. Tahapan selanjutnya adalah proses dehidrasi. Dehidrasi adalah proses menghilangkan air dari jaringan agar parafin cair bisa masuk ke jaringan. Dehidrasi menggunakan larutan etanol bertingkat dengan konsentrasi bertingkat yakni 70%, 80%, 90% (Muntiha, 2001)

Setelah tahap dehidrasi, tahap selanjutnya adalah *clearing*. Proses *Clearing* bertujuan membuat jaringan tampak transparan. Sampel kulit direndam dalam larutan xylol I, II, II masing-masing 20 menit hingga tampak transparan. Sampel

kulit kemudian dimasukkan ke dalam parafin cair I, II, III pada inkubator parafin suhu 58-60 °C. Tahapan selanjutnya adalah *embedding* yang bertujuan membuat blok parafin jaringan. *Embedding* merupakan proses menanam jaringan ke dalam parafin cair kemudian dibiarkan pada suhu kamar agar membeku. Setelah potongan dalam parafin padat, blok-blok parafin dipotong tipis dengan tebal 5 mikrometer menggunakan alat mikrotom. Hasil dari potongan tersebut ditaruh di *waterbath* suhu 40°C agar jaringan mengembang. Sediaan tersebut kemudian diangkat dan diletakkan pada *object glass* dan dikeringkan selama satu malam dalam inkubator dengan suhu 60°C sehingga dapat dilakukan pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Pengamatan histopatologi dengan menggunakan mikroskop perbesaran 400x dan dilakukan pada 5 lapang pandang untuk melihat bagian yang normal dan abnormal dari mulai epidermis, dermis, peradangan (inflamasi) kemudian dijelaskan secara deskriptif (Suwiti, 2010).

4.7.8 Ekspresi TGF- β menggunakan Imunohistokimia (IHK)

Metode pewarnaan imunohistokimia dimulai dengan perendaman *slide* preparat pada *xylol 1*, *xylol 2*, dan etanol bertingkat (100%, 90%, 80%, 70%). Slide preparat lalu dicuci menggunakan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali selanjutnya ditetesi dengan 3% H₂O₂ selama 20 menit. Selanjutnya, dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali dan diblok dengan 1% *Bovine Serum Albumin* (BSA) selama 30 menit. *Slide* preparat dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit 3 kali dan diinkubasi dengan antibodi primer *anti rat TGF- β* selama semalam pada suhu 40°C, kemudian dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali. Preparat lalu

diinkubasi dengan antibodi sekunder selama 1 jam dengan suhu ruang. Selanjutnya dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali (Susanto dkk, 2010).

Slide preparat diberi *Strep Avidin Horse Radish Peroxidase* (SA-HRP) selama 40 menit dan dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali. Ditetesi dengan kromagen selama 10 menit dan dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali. *Counterstaining* menggunakan *Mayer Hematoxylen* selama 5 menit. Preparat dicuci dengan air mengalir kemudian dibilas dengan aquades dan dikeringkan. Preparat di *mounting* dengan entellan dan ditutup dengan cover glass (Susanto dkk, 2010). Ekspresi TGF- β diamati pada bagian sel yang mengekspresikannya, seperti pada makrofag dan fibroblas. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x dengan lima bidang pandang. Hasil pengamatan akan tampak warna kecoklatan pada sitoplasma sel fibroblas kemudian di dokumentasikan (Randall and Coggle, 2009).

4.7.9 Analisa Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini berupa persentase ekspresi TGF- β dengan data kuantitatif dianalisa menggunakan program SPSS 21.0 dengan uji t untuk melihat ada tidaknya perbedaan respon yang bermakna antara kedua perlakuan ($\alpha= 5\%$). Uji t yang dipakai adalah uji t independen. Independen t test adalah uji komparatif atau uji beda untuk mengetahui adakah perbedaan mean atau rerata yang bermakna antara 2 kelompok bebas yang tidak berpasangan (Pratisto, 2004). Perubahan gambaran histopatologi kulit diamati secara kualitatif dengan mengamati bagian normal dan abnormal dari mulai

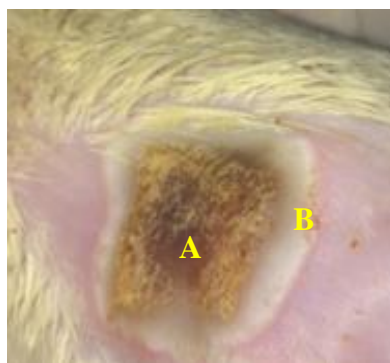
epidermis, dermis, peradangan (inflamasi) menggunakan mikroskop kemudian difoto menggunakan *Optilab Image Viewer*, selanjutnya dijelaskan secara deskriptif (Suwiti, 2010).



BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

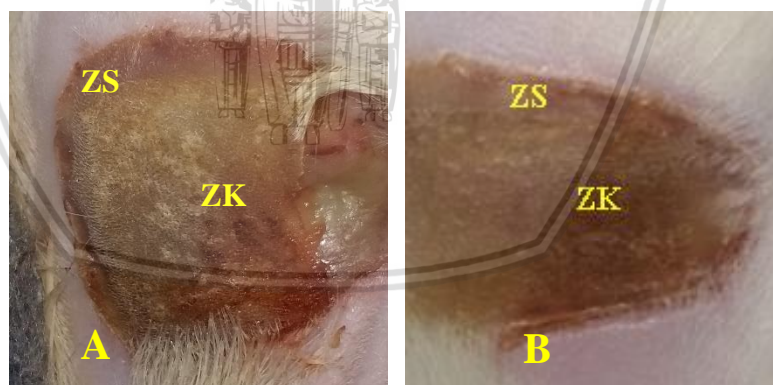
5.1 Gambaran Makroskopis Hasil Terapi Salep VCO dan Gel Ekstrak Plasenta terhadap Luka Bakar derajat II B pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Kulit tikus diinduksi luka bakar derajat II b dengan menempelkan plat besi yang tersambung solder listrik selama 10 detik menunjukkan perubahan gambaran makroskopis berupa permukaan kulit yang berwarna putih pucat pada bagian tengah (**Gambar 5.1**). Hal ini menandakan terjadi koagulasi protein akibat kontak dengan sumber panas yang menyebabkan terbentuknya eskar. Adanya eskar menyebabkan terhalangnya vaskularisasi atau aliran darah ke area tersebut sehingga warna luka tampak putih pucat. Pada tepian luka bakar terlihat pembengkakan kecil berisi cairan serous yang pada luka bakar biasa disebut dengan *bullae* (Moenadjat, 2003). Adanya *bullae* menandakan bahwa telah terjadi ekstravasi cairan plasma akibat meningkatnya permeabilitas vaskuler yang disebabkan kontak dengan sumber panas (Morison, 2004).



Gambar 5.1. Gambaran luka bakar hari ke-2.
Keterangan: A. Kematian jaringan kulit.
B. Pembengkakan/bullae pada area tepi luka.

Pengamatan gambaran makroskopis luka bakar setelah diterapi hingga hari ke-4 menunjukkan perubahan yang relatif sama pada kedua perlakuan. Pada kedua kelompok perlakuan terjadi pembentukan jaringan kulit mati pada zona koagulasi dengan struktur tebal dan kasar yang disebut eskar. Zona koagulasi merupakan titik kerusakan maksimal pada luka bakar, protein jaringan tersebut mengalami koagulasi atau kerusakan. Pada tepian luka mulai tumbuh rambut baru baik pada kelompok perlakuan VCO maupun ekstrak plasenta. Perbedaan dari kedua kelompok perlakuan tampak pada zona statis luka. Zona statis merupakan tempat terjadinya perubahan permeabilitas kapiler dan respon inflamasi lokal. Pada kelompok perlakuan VCO, zona statis luka bakar terlihat kemerahan (**Gambar 5.2A**). Sedangkan pada kelompok perlakuan Ekstrak plasenta memperlihatkan zona statis dan zona koagulasi yang berwarna kecoklatan (**Gambar 5.2B**).



Gambar 5.2. Gambaran makroskopis luka bakar setelah terapi pada hari ke-4 (Dokumentasi pribadi, ZK: Zona Koagulasi, ZS: Zona Statis).

Keterangan: **A.** Kelompok terapi salep VCO, terbentuk eskar, mulai terjadi pertumbuhan rambut baru pada tepi luka, zona statis luka tampak lebih kemerahan.

B. Kelompok terapi gel ekstrak plasenta, terbentuk eskar, mulai terjadi pertumbuhan rambut baru pada area tepi luka, zona statis luka tampak berwarna kecoklatan.

Perbedaan yang terjadi antara kelompok perlakuan VCO dan Ekstrak plasenta terlihat pada zona statis dan zona koagulasi disebabkan karena masih aktifnya proses inflamasi pada kelompok perlakuan VCO yang ditandai dengan warna kemerahan pada zona statis. Menurut (Abbas *et al.*, 2017), Inflamasi mempunyai ciri-ciri antara lain timbulnya rasa sakit, kemerahan, panas dan bengkak pada daerah infeksi. Warna kemerahan yang terjadi disebabkan karena bertambah besarnya diameter vaskular. Hal ini akan meningkatkan aliran darah ke tempat cedera sehingga menimbulkan warna kemerahan. Sedangkan pada kelompok perlakuan Ekstrak plasenta memperlihatkan zona statis dan zona koagulasi berwarna kecoklatan yang menandakan bahwa proses inflamasi mencapai tahap akhir pada hari ke-4 dan mulai masuk ke fase proliferasi. Ekstrak plasenta mampu memberikan efek lebih cepat terhadap luka dibanding dengan VCO, ditandai dengan fase inflamasi yang berjalan singkat dari normalnya. Fase inflamasi normalnya berlangsung dari hari pertama hingga hari ke-5 pasca cedera (Prasetyono, 2009). Plasenta mengandung protein kolagen yang dapat mempercepat proses kesembuhan luka (Park, 2010).

Pengamatan makroskopis luka pada hari ke-7 menunjukkan pada kelompok perlakuan VCO belum tampak pengecilan luka, namun warna area luka tampak mulai merata baik pada zona koagulasi maupun zona statis yaitu berwarna kecoklatan yang berarti fase inflamasi telah terlewati dan masuk ke fase proliferasi. Fase proliferasi normalnya terjadi pada hari ke 5-21 pasca cedera (Sabiston, 2008). Eskar masih ada dan mulai tumbuh rambut-rambut baru pada zona statis luka. Pada kelompok perlakuan Ekstrak plasenta tidak

memiliki perbedaan jauh dengan kelompok perlakuan VCO, luka berwarna kecoklatan, rambut-rambut halus mulai tumbuh pada area luka, eskar masih ada dan belum ada pengecilan pada area luka. Eskar nantinya akan terpisah dengan jaringan dibawahnya pada minggu ke-2 pasca perlukaan dan akan muncul jaringan granulasi. Jaringan granulasi adalah pertumbuhan jaringan baru yang terjadi ketika luka mengalami proses kesembuhan, terletak pada dasar luka yang berwarna kemerahan karena mengandung pembuluh-pembuluh kapiler baru dan sel-sel fibroblas yang mengisi rongga tersebut (Kusuma dkk, 2014).



Gambar 5.3. Gambaran makroskopis luka bakar setelah terapi pada hari ke-7 (Dokumentasi pribadi, ZK: Zona Koagulasi, ZS: Zona Statis).

Keterangan: **A.** Kelompok terapi salep VCO, tampak pertumbuhan rambut pada zona statis, belum terlihat pengecilan pada area luka, masih terdapat eskar pada luka.
B. Kelompok terapi gel ekstrak plasenta, tampak pertumbuhan rambut pada zona statis, belum terlihat pengecilan pada area luka, masih terdapat eskar pada luka.

Salep VCO dan gel ekstrak plasenta memiliki keunggulan masing-masing dalam menyembuhkan luka. Pada hari ke-7 terlihat pada kedua kelompok perlakuan (**Gambar 5.3A dan B**) luka mulai membaik, tampak warna kecoklatan karena inflamasi yang mereda dan fibroblas yang aktif pada fase proliferasi. Fibroblas merupakan sel yang paling banyak terdapat di jaringan ikat, berfungsi menyintesis serat protein seperti kolagen yang

membentuk serat kolagen untuk mempertautkan serat protein satu dengan yang lainnya agar mengurangi peregangan oleh luka dan menguatkan tahanan luka (Eroschenko, 2010).

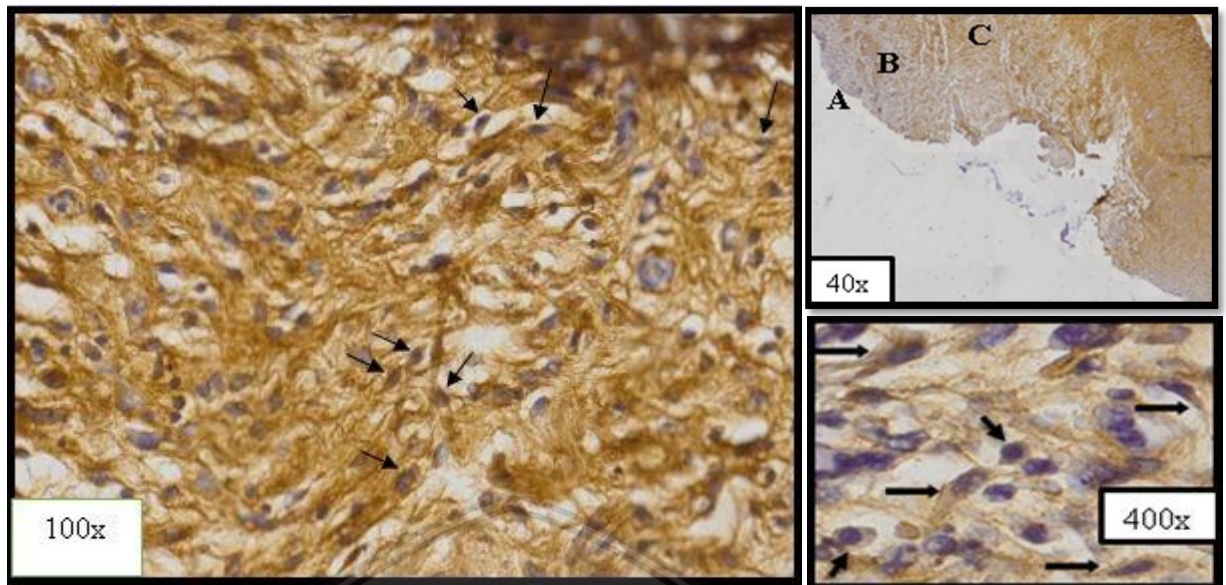
Kandungan asam laurat dan *phytosterol* yang terdapat dalam VCO berfungsi sebagai antibakteri dan antiinflamasi. Asam laurat dapat menghambat infeksi dengan merusak dinding sel bakteri sehingga meminimalisir kontaminasi luka oleh bakteri yang dapat menyebabkan luka berlangsung lama. Sedangkan aktivitas antiinflamasi dari *phytosterol* mampu menghambat jalur siklooksigenase sehingga mengurangi pelepasan mediator radang (Varma *et al.*, 2017). Plasenta kaya akan protein kolagen yang dapat mempercepat kesembuhan luka. Gel Ekstrak plasenta bekerja membentuk jaringan baru dengan meningkatkan TGF- β dan VEGF pada fase akhir kesembuhan luka sehingga dapat menstimulasi regenerasi sel (Gupta *et al.*, 2016). Sedangkan neomisin sulfat merupakan antibakteri (Koch *et al.*, 2012).

Dalam penanganan terhadap luka bakar, hal pertama yang dilakukan yakni menghentikan sumber panas dan mendinginkan luka bakar dengan cara diletakkan dibawah air mengalir selama kurang lebih 10-15 menit agar kerusakan tidak semakin meluas. Penggunaan aloe vera dianjurkan karena aloe vera terdiri dari 99 % air, vitamin dan asam amino. Aloe vera memiliki sifat mendinginkan dan memilki kandungan mucopolisakarida yang membantu dalam mengikat kelembaban kulit dan mengandung asam amino yang menyebabkan sel kulit yang mengeras menjadi lembab (Nugraha dan Rahayu, 2015).

5.2 Perbedaan Respon Terapi Salep VCO dan Gel Ekstrak Plasenta pada Luka Bakar Tikus Berdasarkan Ekspresi TGF- β

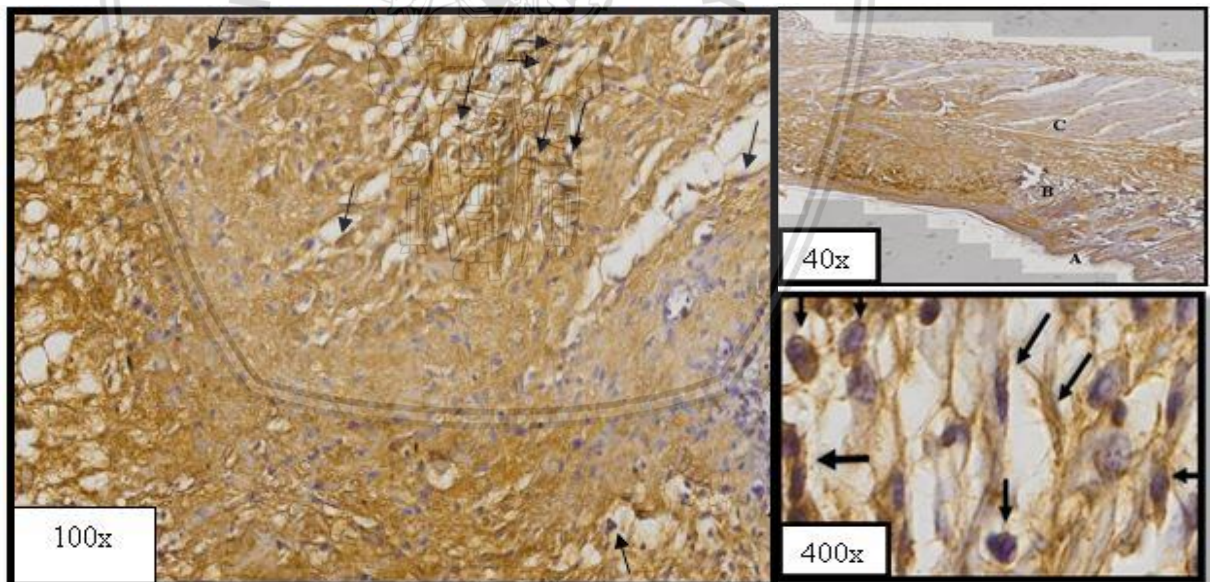
Ekspresi *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- β) pada jaringan kulit tikus (*Rattus norvegicus*) model luka bakar yang diterapi salep VCO dan gel Ekstrak plasenta diamati menggunakan mikroskop kemudian preparat discan lalu dibaca menggunakan aplikasi *Olyvia* dengan perbesaran 400x sebanyak 5 lapang pandang. Setelah itu dilakukan penghitungan dengan menggunakan program *software ImmunoRatio* untuk memperoleh nilai rata-rata persentase area ekspresi TGF- β pada kedua kelompok perlakuan. Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan program SPSS 2.1 dengan uji T untuk melihat ada tidaknya perbedaan respon yang bermakna antara kedua perlakuan.

Uji T dibedakan menjadi 2 yakni *paired t test* dan *independent t test*. *Paired t test* merupakan uji perbandingan untuk mengetahui adakah perbedaan mean atau rerata yang bermakna antara 2 kelompok yang berpasangan. *Independent t test* merupakan uji komparatif atau uji beda untuk mengetahui adakah perbedaan mean atau rerata yang bermakna antara 2 kelompok yang tidak berpasangan (Pratisto, 2004). Hasil penelitian mengenai perbedaan respon terapi salep VCO dan gel Ekstra plasenta pada luka bakar tikus berdasarkan ekspresi TGF- β dapat dilihat pada (**Gambar 5.4 dan 5.5**).



Gambar 5.4. Ekspresi *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- β) pada jaringan kulit tikus (*Rattus novergicus*) model luka bakar yang diterapi salep VCO

Keterangan : A. Epidermis; B. Dermis; C. Muskulus; Tanda panah hitam menunjukkan ekspresi TGF- β oleh sel fibroblas dan makrofag



Gambar 5.5. Ekspresi *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- β) pada jaringan kulit tikus (*Rattus novergicus*) model luka bakar yang diterapi gel Ekstrak plasenta

Keterangan : A. Epidermis; B. Dermis; C. Muskulus; Tanda panah hitam menunjukkan ekspresi TGF- β oleh sel fibroblas dan makrofag

Ekspresi TGF- β terlihat pada kedua kelompok perlakuan, baik tikus yang diterapi dengan salep VCO maupun gel ekstrak plasenta. Ekspresi TGF- β ditunjukkan dengan terbentuknya warna kecoklatan pada sitoplasma sel fibroblast dan makrofag pada lapisan dermis kulit. Hal ini dikarenakan adanya interaksi antara TGF- β pada jaringan kulit dengan antibodi yang ditambahkan, yaitu *anti rat TGF- β* sebagai antibodi primer dan *rabbit anti rat TGF- β* sebagai antibodi sekunder, yang kemudian menyebabkan terbentuknya ikatan kompleks antigen-antibodi yang dikenali oleh SA-HRP (*Strep Avidin-Horse Radish Peroxidase*) dan terwarnai dengan substrat kromagen DAB (*Diaminobenzidine*) sehingga tervisualisasi warna kecoklatan (Susanto dkk, 2010).

Data rata-rata ekspresi TGF- β dari kedua kelompok perlakuan dapat dilihat pada (**Tabel 5.1**).

Tabel 5.1. Rata-Rata Ekspresi TGF- β pada Kulit Tikus

Perlakuan	Rata-Rata Ekspresi TGF- β \pm SD (%)
P1 (terapi salep VCO)	94.68889 \pm 3.728594
P2 (terapi gel ekstrak plasenta)	93.07778 \pm 2.782094

Rata-rata ekspresi TGF- β pada kulit tikus kelompok perlakuan terapi salep VCO (P1) menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan terapi gel ekstrak plasenta (P2). Berdasarkan perhitungan stasistik dengan uji T (**Lampiran 9**) menunjukkan bahwa terapi salep VCO terhadap luka bakar derajat II b tidak memiliki perbedaan yang nyata dengan terapi menggunakan gel ekstrak plasenta. Ekspresi TGF- β yang meningkat menandakan bahwa dalam 7 hari proses terapi luka telah melewati fase inflamasi. Prasetyono (2009) menyatakan bahwa fase inflamasi normalnya

berlangsung selama 2-5 hari pasca perlukaan, kerusakan jaringan serta adanya infeksi dapat menyebabkan terjadinya fase inflamasi yang lebih lama.

Namun jika tidak ada infeksi sekunder yang menyertai fase inflamasi dapat berlangsung normal dan luka akan segera masuk ke fase proliferasi yang ditandai dengan meningkatnya ekspresi TGF- β (Abbas *et al.*, 2003). Ekspresi TGF- β yang meningkat akan mempercepat dalam menstimulasi fibroblast untuk berproliferasi sehingga dapat mensintesis kolagen dalam membentuk kekuatan luka dan luka akan cepat sembuh (Faler, 2006). Luka bakar rentan terjadi infeksi, kondisi luka bakar yang terbuka dan lembab akan menciptakan lingkungan yang ideal bagi mikroorganisme untuk menginfeksi. Peningkatan ekspresi TGF- β pada kelompok perlakuan salep VCO mengindikasikan bahwa VCO mampu menekan kerusakan jaringan dan infeksi sekunder yang menyertai pada fase inflamasi sehingga fase inflamasi tidak berkepanjangan. Hal ini dikarenakan VCO memiliki kandungan *Phytosterol* yang berperan sebagai antiinflamasi dan Asam laurat yang berperan sebagai antimikroba.

Kerusakan jaringan saat luka terbentuk akan memicu aktivasi enzim fosfolipase yang mengubah fosfolipid pada membran sel yang mengalami kerusakan menjadi asam arakhidonat. Asam arakhidonat akan dimetabolisme menjadi dua jalur yaitu lipooksigenase dan sikloooksigenase. Lipooksigenase adalah enzim utama pada neutrofil yang menghasilkan senyawa leukotrien yang memiliki kemotaktik kuat dalam merangsang migrasi leukosit ke area luka. Sedangkan jalur sikloooksigenase akan menghasilkan prostaglandin yang menyebabkan vasodilatasi dan pembentukan edema. *Phytosterol* bekerja dengan menghambat jalur sikloooksigenase sehingga mengurangi pelepasan

mediator radang seperti prostaglandin. Ketika prostaglandin dihambat akan terjadi vasokonstriksi sehingga sulit dilalui oleh larutan protein. Penurunan permeabilitas tersebut menyebabkan penurunan jumlah cairan yang keluar dari pembuluh darah dan edema tidak terbentuk (Varma *et al.*, 2017). Sedangkan Asam laurat yang terkandung dalam VCO akan dipecah menjadi monolaurin oleh tubuh. Monolaurin bekerja dengan cara merusak permeabilitas struktur membran dari bakteri sehingga mampu melisis dan membunuh bakteri (Silalahi *and* Surbakti, 2015).

Apabila terjadi infeksi pada luka bakar dapat memicu inflamasi berkepanjangan sehingga merusak sel-sel akibat diproduksinya *reactive oxygen species* (ROS) oleh makrofag. Senyawa ROS akan dikeluarkan oleh makrofag baik dalam kondisi normal maupun kondisi infeksi untuk mengeliminasi bakteri. Namun aktivitas ROS yang terlalu tinggi dapat memicu terjadinya inflamasi berkepanjangan akibat aktivasi asam arakidonat yang dapat berujung pada kerusakan sel (Lima *et al.*, 2009). Kandungan tokoferol yang terdapat pada VCO berfungsi sebagai antioksidan mampu menurunkan sitokin proinflamasi dan menstabilkan radikal bebas pada area luka sehingga reaksi oksidasi dapat dicegah (Winarsih, 2007).

Kelompok terapi gel ekstrak plasenta (P2) menunjukkan rata-rata ekspresi TGF- β yang tidak berbeda nyata dengan terapi salep VCO. Ekstrak plasenta memiliki aktivitas antiinflamasi yang bekerja dengan menekan jalur siklooksigenase. Ekstrak plasenta menekan jalur siklooksigenase dengan cara berperan sebagai inhibitor pada membran reseptor B1 inflamasi, aktivitas ini

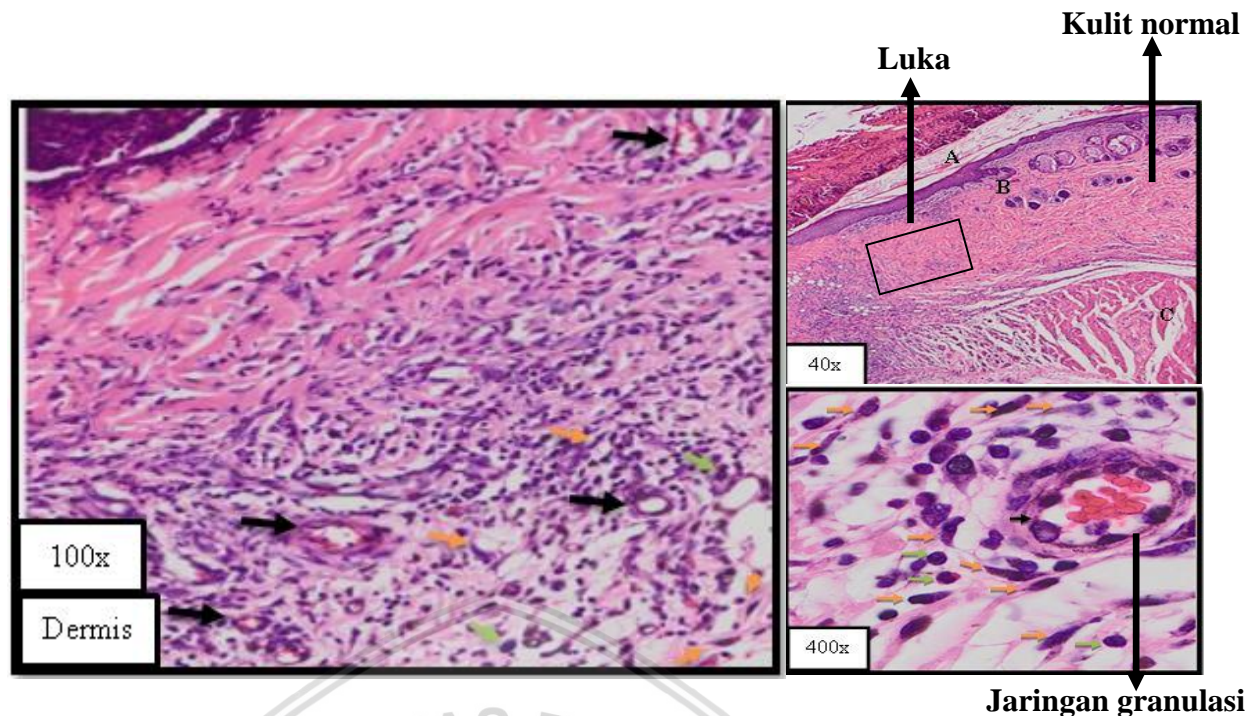
menimbulkan penurunan aktivasi makrofag dan menekan laju inflamasi (Gupta *et al.*, 2016).

Kandungan lain dalam gel ekstrak plasenta adalah neomycin sulfat. Neomycin sulfat adalah antibiotik golongan aminoglikosida yang bekerja dengan cara mengikat sub unit 30s dari ribosom bakteri sehingga menghambat sintesa protein bakteri (Koch *et al.*, 2012). Apabila terjadi infeksi bakteri maka dapat memperpanjang proses inflamasi yang ditandai dengan ekspresi TGF- β yang rendah. Namun pada kelompok perlakuan terapi gel ekstrak plasenta didapati ekspresi TGF- β yang meningkat yang menandakan fase inflamasi tidak berkepanjangan atau tidak adanya infeksi bakteri yang menyertai sehingga inflamasi tidak berlangsung lama. Neomycin sulfat mampu menekan inflamasi.

Rata-rata ekspresi TGF- β pada kelompok perlakuan terapi Salep VCO tidak memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok perlakuan terapi gel ekstrak plasenta karena VCO dan gel ekstrak plasenta memiliki kandungan yang berfungsi untuk mempercepat kesembuhan luka. Peningkatan ekspresi TGF- β dalam jangka waktu 7 hari terapi proses penyembuhan luka menandakan luka sudah masuk ke fase proliferasi. Pada fase proliferasi tersebut akan terjadi pembentukan jaringan granulasi yang ditandai dengan terbentuknya kapiler darah baru, proliferasi fibroblas guna memproduksi kolagen yang berfungsi memberikan kekuatan pada tahanan luka sehingga luka akan cepat sembuh (Eroschenko, 2010).

5.3 Perbedaan Respon Terapi Salep VCO dan Gel Ekstra Plasenta pada Luka Bakar Tikus Putih Berdasarkan Gambaran Histopatologi Kulit

Kulit adalah suatu jaringan yang berperan sebagai pembungkus seluruh permukaan tubuh yang salah satunya berfungsi sebagai pelindung utama untuk jaringan dibawahnya. Jaringan kulit tersusun oleh beberapa lapisan utama antara lain epidermis, dermis dan hipodermis. Lapisan epidermis tersusun lagi atas stratum korneum, stratum lucidum, stratum granulosum, stratum spinosum dan stratum basale atau stratum germinativum, sedangkan dermis tersusun atas dua stratum yakni stratum papilar dan stratum retikular (Junquiera, 2007). Induksi luka bakar derajat II b pada kulit tikus akan menimbulkan kerusakan hingga lapisan dermis. Proses re-epitelisasi pada luka bertujuan untuk membentuk konstruksi kulit yang rusak menjadi normal seperti semula. Penelitian ini menggunakan gambaran histopatologi kulit sebagai parameter kedua pada kesembuhan luka bakar derajat II b.



Gambar 5.6. Histopatologi kulit kelompok perlakuan terapi salep VCO (HE)
Keterangan : A. Epidermis; B. Dermis; C. Muskulus; Tanda Panah Berwarna hitam → :Kapiler darah; Tanda Panah Berwarna orange (→): Fibroblas; Tanda Panah Berwarna hijau (→): Sel radang (Makrofag dan Limfosit).

Gambaran histopatologi dari kelompok perlakuan terapi salep VCO (**Gambar 5.6**) yang merupakan perkembangan jaringan hari ke-7 pasca perlakuan luka bakar, terlihat bahwa jaringan sudah mulai terbentuk. Pada lapisan epidermis perbesaran 40x sudah terjadi re-epitelisasi dan menempel sempurna pada membran basalis yang memisahkan epidermis dengan dermis, lapisan-lapisan stratum pada epidermis juga sudah terbentuk antara lain stratum basalis pada dasar lapisan epidermis, stratum spinosum pada area tengah dari epidermis, stratum granulosum pada lapisan atas epidermis yang berciri-ciri memiliki epitel squamus kompleks (Kalangi, 2013). Hal tersebut sesuai dengan penelitian Kumar *et al.*, (2003), bahwa proses re-epitelisasi pada lapisan epidermis pada kulit tikus terjadi pada hari ke lima pasca perlukaan.

Pada bagian dermis perbesaran 100x dan 400x terlihat sel radang yang mulai berkurang jumlahnya dan mulai terbentuk jaringan granulasi yang terisi

oleh sekumpulan fibroblas yang berproliferasi dan pembentukan kapiler baru (angiogenesis). Hal ini menandakan bahwa luka telah melewati fase inflamasi dan masuk ke fase proliferasi. Fase proliferasi ditandai dengan jumlah sel radang yang mulai menurun, adanya fibroblast yang berproliferasi, pembentukan kapiler baru dan pembentukan epitel (epitelisasi) (Sabiston, 2008).

Jumlah sel radang yang mengalami penurunan akibat efek anti bakteri dan anti inflamasi dari senyawa aktif yang terkandung di dalam VCO yakni asam laurat dan *phytosterol*. Aktivitas anti bakteri dari asam laurat mampu mengeliminasi bakteri dengan merusak dan menembus dinding bakteri (Silalahi and Surbakti, 2015). Bakteri yang telah tereliminasi akan meminimalisir migrasi sel radang yang berfungsi sebagai sel fagosit, sehingga jumlahnya akan menurun, selain itu aktivitas anti inflamasi dari *phytosterol* yang terkandung dalam *Virgin Coconut Oil* (VCO) akan mempercepat fase inflamasi dengan menghambat siklus sikloksigenase sehingga mediator inflamasi yang dihasilkan juga akan terhambat sehingga dengan meredanya inflamasi jumlah sel radang yang bermigrasi ke area luka akan mengalami penurunan (Rathee *et al.*, 2009). Hal tersebut sesuai dengan pendapat Schultz (2007) yang menyatakan bahwa setelah peradangan akut mereda, permeabilitas vaskuler lokal akan segera pulih menyebabkan sel radang akan berhenti masuk ke dalam ruang ekstrasvaskuler sehingga terjadi penurunan dari jumlah sel radang.

Kandungan asam lemak yang terdapat pada VCO memiliki kemampuan dalam menstimulasi kesembuhan luka. Menurut Nevin dan Rajamohan (2010)

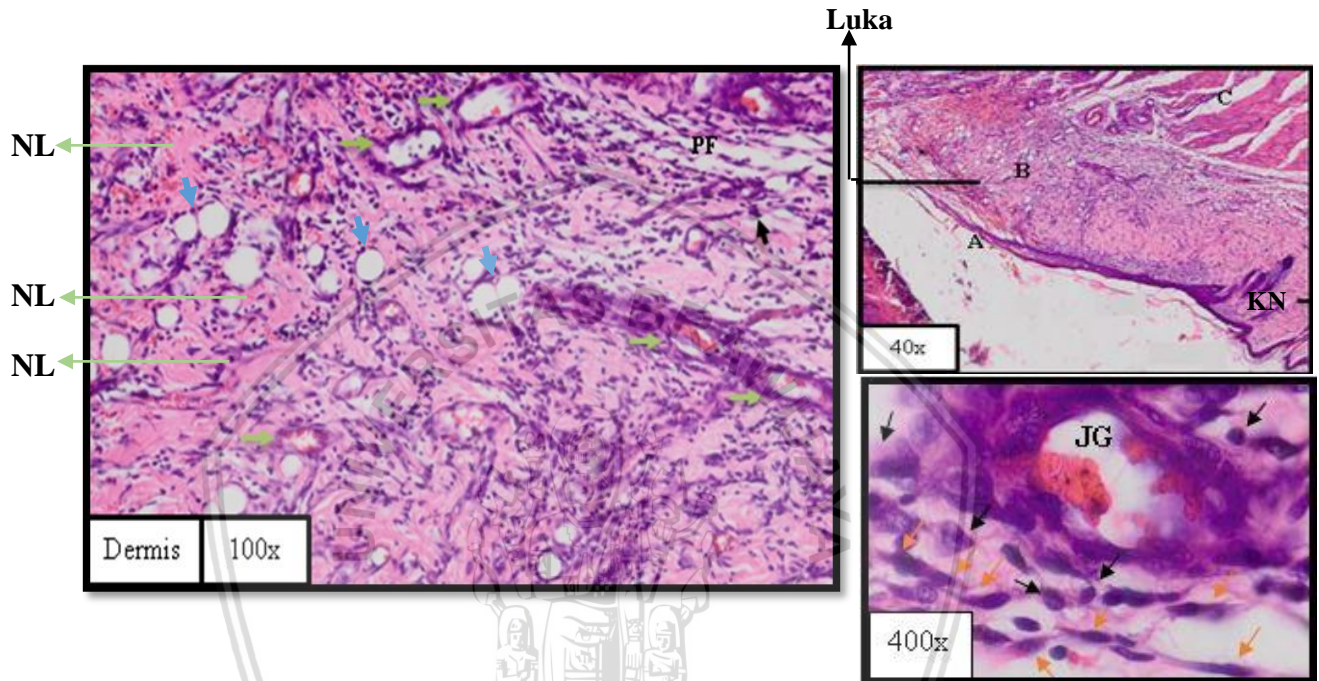
asam lemak seperti asam laurat dan asam linoleat yang terkandung pada VCO merupakan molekul bioaktif yang dapat memodulasi proliferasi sel, *cell signaling* dan aktivitas *growth factor*. *Growth factor* seperti TGF- β dan VEGF akan teraktivasi dan memicu terjadinya proliferasi fibroblas, epitelisasi dan angiogenesis (pembentukan kapiler baru).

Pada fase proliferasi terdapat peran fibroblas yang akan mengalami perpindahan secara aktif dari jaringan sekitar luka menuju area luka. Fibroblas melakukan rekonstruksi jaringan luka dengan mengeluarkan berbagai substansi penting seperti: kolagen, elastin, asam hyaluronat dan fibronectin (Sumbayak, 2016). Pada bagian dermis perbesaran 100x kelompok perlakuan terapi Salep VCO, terlihat banyak kolagen berbentuk seperti serabut-serabut yang berwarna merah muda. Adanya kolagen disebabkan karena aktivitas proliferasi fibroblast yang berfungsi untuk memproduksi kolagen sebagai penyokong utama kekuatan tahanan luka. Ketika banyak fibroblas yang berproliferasi maka akan meningkatkan produksi kolagen sehingga luka akan cepat sembuh. Kolagen merupakan protein fibrosa tebal kuat yang tidak bercabang. Kolagen adalah serat yang paling banyak jumlahnya dan merupakan komponen utama matriks ekstraseluler, unsur pembentuk utama jaringan ikat (Eroschenko, 2010).

Dalam melakukan proses re-epitelasi, fibroblast mengeluarkan *Kreatinocyte Growth Factor* (KGF). *Kreatinocyte Growth Factor* dibantu oleh *Epidermal Growth Factor* (EGF) berperan dalam proses stimulasi re-epitelisasi epidermis. Proses epitelisasi dimulai dari keratinosit yang bermigrasi dari membran basalis akan bergerak menyeberangi permukaan luka dan menyatu dengan epitel pada lapisan kulit normal. Keratinosit merupakan sel dominan

pada lapisan epidermis yang berperan sebagai protektif awal bagi kulit. Keratinosit akan mengalami keratinisasi atau kornifikasi pada epitel (Junqueira dan Carnerio, 2007).

Gambaran histopatologi kulit kelompok terapi gel ekstrak plasenta terhadap luka bakar derajat II b dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 5.7. Histopatologi kulit kelompok perlakuan terapi gel ekstrak plasenta (HE)
Keterangan : A. Stratum epidermis yang belum terbentuk sempurna; B. Dermis; C. Muskulus; KN = Kulit normal; Tanda Panah Berwarna hitam (→): Sel radang (makrofag dan limfosit); Tanda Panah Berwarna hijau (→): kapiler; JG: Jaringan Granulasi; Tanda Panah Berwarna Orange (→): Fibroblas; Tanda Panah Berwarna Biru (→): Bakal Kapiler; NL: Nekrosis Likuifaktif.

Pada gambaran histopatologi kulit perbesaran 40x diatas menunjukkan pembentukan epidermis yang belum sempurna, membran basalis yang menyatukan bagian epidermis dengan dermis belum terbentuk sempurna. Pada gambaran histopatologi kulit bagian dermis perbesaran 100x dan 400x terlihat jaringan granulasi yang terisi oleh sekumpulan fibroblas yang berproliferasi dan membentuk kapiler baru (angiogenesis). Sama halnya dengan kelompok terapi salep VCO bahwa hal ini menandakan luka telah melewati fase inflamasi dan

masuk ke fase proliferasi. Namun pada bagian dermis perbesaran 100x kelompok perlakuan terapi gel ekstrak plasenta tampak terjadi nekrosis jaringan. Nekrosis adalah kematian sel akibat cedera. Nekrosis dapat disebabkan oleh mikroorganisme, virus, zat kimia dan agen lainnya yang bersifat merusak. Sel-sel yang nekrotik akan membengkak, organelnya bertambah besar dan akhirnya pecah yang akan melepaskan isinya ke dalam ruang ekstraseluler. Makrofag menangkap debris dari sel-sel nekrotik melalui fagositosis dan kemudian menyekresi molekul yang mengaktifkan sel-sel imun lainnya untuk membangkitkan proses peradangan (Junqueira dan Carnerio, 2007).

Nekrosis yang terjadi yakni nekrosis liquefaktif (**Gambar 5.7**), ditandai dengan area berwarna merah muda dan berongga yang berisi cairan. Tipe nekrosis ini mencerna puing-puing jaringan mati akibat cedera panas atau infeksi bakteri menjadi bentuk cairan. Nekrosis liquefaktif ditandai oleh larutnya jaringan akibat lisis enzimatis sel-sel yang mati. Nekrosis liquefaktif juga terjadi pada peradangan akibat efek heterolitik leukosit polimorfonuklear pada pus. Kejadian luka bakar memicu kerusakan kapiler dan peningkatan permeabilitas vaskuler akibat paparan suhu tinggi yang menyebabkan cairan plasma bocor keluar dari kapiler menuju ruang interstisial sehingga menyebabkan terjadinya edema (Morison, 2004).

Molekul NADPH yang terkandung dalam ekstrak plasenta dapat menstimulasi peningkatan keratin dan filaggrin yang berfungsi sebagai *barier* dari epidermis. Subtansi lain dalam ekstrak plasenta seperti *nitric oxide* (NO) mampu memediasi perkembangan matriks seluler pada fase remodelling luka,

selain itu NO dapat meningkatkan persediaan oksigen pada jaringan melalui proses angiogenesis (Gupta *et al.*, 2016).

Berdasarkan gambaran histopatologi kulit antara kelompok terapi salep VCO dan kelompok terapi gel ekstrak plasenta menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata. Terapi luka bakar dengan menggunakan salep VCO memberikan hasil yang sama baiknya dengan terapi gel ekstrak plasenta. Salep VCO dan gel ekstrak plasenta memiliki keunggulan masing-masing dalam mempercepat kesembuhan luka. VCO mampu mempercepat pembentukan jaringan granulasi yang kaya akan kolagen, sedangkan gel ekstrak plasenta mampu mempercepat pembentukan jaringan granulasi yang kaya akan kapiler-kapiler muda. Kedua kelompok perlakuan telah melewati fase inflamasi yang ditandai dengan tidak adanya kapiler yang berdilatasi. Fase proliferasi pada kedua kelompok perlakuan sama baiknya, ditandai dengan terbentuknya jaringan granulasi yang berisi fibroblast yang berproliferasi dan pembentukan kapiler-kapiler baru yang penting untuk proses regenerasi luka sehingga luka dapat dengan cepat sembuh.

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang telah disampaikan dapat diambil kesimpulan :

1. Terapi salep VCO pada luka bakar derajat II b berdasarkan ekspresi TGF- β memberikan hasil yang tidak berbeda nyata dengan gel ekstrak plasenta dan neomycin sulfat.
2. Terapi salep VCO pada luka bakar derajat II b berdasarkan gambaran histopatologi kulit memberikan respon yang sama dengan gel ekstrak plasenta dan neomycin sulfat.

6.2 Saran

Saran yang dapat diberikan yaitu perlu adanya penelitian lanjutan untuk mengkaji potensi terapi VCO (*Virgin Coconut Oil*) pada luka bakar derajat II b menggunakan sediaan lain seperti krim, gel atau pasta. Selain itu perlu juga dilakukan perpanjangan waktu penelitian guna mengetahui secara spesifik perubahan dan perkembangan jaringan luka pada setiap fase kesembuhan luka.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H. and S. Pillai. 2003. *Cellular and Molecular Immunology. Fifth Edition*. Saunders Elsevier.
- Abbas, A.K., Lichtman, A.H. and S. Pillai. 2017. *Imunologi Dasar Abbas. Edisi Indonesia Kelima*. Diterjemahkan oleh: Handono Kalim. Singapore: Elsevier.
- Abdeldjelil, M. C, A. Messai A. Boudebza and S. Beghoul. 2017. Practical Aspects to Generate Cutaneous Experimental Burns in A Rat Model. *Der Pharma Chemica*, 9(1):59-67.
- Akbari, H., M.J. Fatemi, M. Iranpour, and A. Khodarahmi. 2015. The Healing Effect of Nettle Extract on Second Degree Burn Wounds. *World J Plast Surg*. 4(1):23-28.
- Alamsyah, A.N. 2005. *Virgin Coconut Oil: Minyak Penakluk Aneka Penyakit*. Jakarta: Penerbit Agro Media Pustaka. hlm 14-17.
- Ahmad, Z., R. Hasham, N. F. Aman and R. Sarmidi 2015. Physico-Chemical and Antioxidant Analysis of Virgin Coconut Oil Using West African Tall Variety. *Journal of Advanced Research in Materials Science*, 13(1):1-10.
- Aprilasani, Z. dan Adiwarna. 2014. Pengaruh Lama Waktu Pengadukan dengan Variasi Penambahan Asam Asetat dalam Pembuatan Virgin Coconut Oil (VCO) dari Buah Kelapa. *KONVERSI*, 3 (1): 1-3.
- Asy'ari, M. dan C. Bambang. 2006. *Pra-Standardisasi: Produksi dan Analisis Minyak Virgin Coconut Oil (VCO)*. JSKA, 9 (3).
- Balqis, U., D. Mayitha dan F. Febrina. 2014. Proses Penyembuhan Luka Bakar dengan Gerusan Daun Kedondong (*Spondias dulcis* F.) dan Vaseline pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Secara Histopatologis. *Jurnal Medik Veterineria* 8(1): 9-13.
- Brown, R.G. and T. Burns. 2005. *Dermatologi Edisi Kedelapan*. Jakarta: Penerbit Erlangga. hlm 1-9.
- Branton, M. H. and J. B. Koop. 1999. TGF- β and Fibrosis. *Microbes and Infection*. 1349-1365.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2008. Minyak Kelapa Virgin (VCO). SNI 7381:2008.
- Byers, C. G. 2012. *Thermal Injury*. Midwest Veterinary Speciality Hospital. Nebraska.

- DeSanti, L. 2005. Pathophysiology and Current Management of Burn Injury. *Adv Skin Wound Care*, 18 (6): 325-327.
- Dewantari, D.R., dan Sugihartini, N. 2015. Formulasi dan Uji Aktivitas Gel Ekstrak Daun Petai Cina (*Leucaena glauca*, Benth) Sebagai Sediaan Obat Luka Bakar. *Farmasains* 2(5): 217-222.
- Dzulfikar. 2012. Penanganan Luka Bakar di Ruang Perawatan Intensif Anak. *Majalah Kedokteran Terapi Intensif Anak*, April; 2 (2).
- Eroschenko, V.P. 2010. *Atlas Histologi DiFiore: dengan korelasi fungsional. Ed 11*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Faler, B.J., Mascata, R.A. and D. Plummer. 2006. Transforming Growth Factor- β and Wound Healing. Perspective in Vascular Surgery and Endovascular Therapy, 18 (1): 55-57.
- Febram, B., Wientarsih dan Pontjo B. 2010. Activity Of Ambon Banana (*Musa Paradisiaca* Var. *Sapientum*) Stem Extract In Ointment Formulation On The Wound Healing Process Of Mice Skin (*Mus Musculus Albinus*). *Majalah Obat Tradisional*. Departemen Klinik, Reproduksi, dan Patologi FKH IPB. Bogor.
- Gupta, V., A. Sinha, Jithendra, S. S. Chauhan and S. Singh. 2016. Placenta Extract the Magical Wound Healer, Next Milestone in the Healing Periodontal Surgery. *Journal of Dental and Medical Sciences*, PP 73-79.
- Gurtner, G. C. 2007. *Wound Healing, Normal and Abnormal*. Philadelphia: *Lippincott Williams and Wilkins* 2007:15-22.
- Hastuti, S. 2017. Pengaruh Pemberian VCO (Virgin Coconut Oil) Terhadap Stabilitas Salep Ekstrak Etil Asetat Daun Seligi (*Phyllanthus buxifolius* Muell. Arg). *Indonesian Journal On Medical Science*, 4(2):157-163.
- Hettiarachy, S. and P. Dziewulski. 2004. ABC of Burns Pathophysiology and Types of Burns. *BMJ*, 328:1427-9.
- Junqueira, L.C., and J, Carneiro. 2007. *Histologi Dasar: Teks dan Atlas. Ed 10*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kalangi, S.J.R. 2013. Histofisiologi Kulit. *Jurnal Biomedik (JBM)*. November, 5 (3): 12-20.
- Kalbe. 2013. Bioplacenton. <http://www.kalbemed.com/Products/Drugs/Branded/tabid/245/ID/5699/Bioplacenton.aspx>. [30 Maret 2018]
- Kristianto. 2010. Peningkatan Ekspresi Transforming Growth Factor Beta 1 (TGF- β 1) pada Luka Diabetes Mellitus Melalui Balutan Modern. *Jurnal Keperawatan Indonesia*, Maret; 13 (1): 20-25.
- Koch, N.S., Sheila, F.T. and D.C. Plumb. 2012. *Canine and Feline Dermatology Drug Handbook*. Wiley Blackwell: USA

- Kumar, V., R. Cotran and S. Robbins. 2003. *Basic Pathology 7th Ed. Saunders*. Philadelphia, London.
- Kusuma, R.F., Ratnawati, R. dan S. Dewi 2014. Pengaruh Perawatan Luka Bakar Derajat II Menggunakan Ekstraketanol 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.
- Lima, C., A. Pereira, J. Silva, L. Oliveira, M. Resck, C. Grechi, M. Bernardes, F. Olimpio, A. Santos, E. Incerpi and J. Garcia. 2009. Ascorbic Acid for The Healing of Skin Wounds in Rats. *Braz J Bio*, 1 69(4), pp 1195-1201.
- Maley, K. and L.Komasara. 2003. *VET 120 Introduction to Lab Animal Science, Valmacer*. <<http://www.medaille.edu/vmacer>; http://www.medaille.edu/vmacer/120_lab_rodentlab1.html> [Diakses pada tanggal 30 Maret 2018].
- Mark, A.S., S.H. Weisbroth and C.L. Franklin. 2005. *The Laboratory Rat*. American College of Laboratory. Animal Medicine Series
- Moenadjat, Y. 2003. *Luka bakar: Pengetahuan Klinik Praktis*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Montgomery, D. dan S. Kowalsky. 2011. Design And Analysis of Experiment. *John Willey an Sains Inc*. ISBN 978-0-470-16990-2.
- Morison, M. J. 2004. *Manajemen Luka*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Muntiha, M. 2001. Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi Dari Jaringan Hewan Dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin. *Temu Teknis Fungsional*. 156-163.
- Nevin, K. G. and T. Rajamohan. 2010. Effect of Topical Application of Virgin Coconut Oil on Skin Components and Antioxidant Status during Dermal Wound Healing in Young Rats. *Skin Pharmasol Physiol*, 23:290-297.
- Nugraha, A. dan U. Rahayu. 2015. Pengaruh Pemberian Aloe Vera pada Pasien Luka Bakar. *Studi Literatur*. STIKes Karsa Husada Garut dan Fakultas Keperawatan Universitas Padjajaran Bandung.
- Park, S.Y., Phark, S., Lee, M., Lim, J.Y. and D. Sul. 2010. Anti-oxidative and anti-inflammatory activities of placental extracts in benzo[a]pyrene-exposed rats. *Placenta*, 31(10), hal.873–879.
- Perdanakusuma D. S. 2007. *Anatomi Fisiologi Kulit dan Penyembuhan Luka*. Surabaya: Airlangga University School of Medicine.
- Prasetyono, T. 2009. General Concept of Wound Healing, Revisited. *Med J Indones*, 18 (3): 208-16).

- Pratisto, A. 2004. *Cara Mudah Mengatasi Masalah Statistik dan Rancangan Percobaan dengan SPSS 12*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo
- Rahayuningsih, T. 2012. Penatalaksanaan Luka Bakar (Combustio). *Jurnal Profesi; Februari-September 2012*, 8.
- Ramsey, I. 2008. *BSAVA Smaal Animal Formulary 6th Edition*. British Small Animal Veterinary Association. England.
- Randall, K and J. Cogle. 2009. Expression of Transforming Growth Factor- β 1 in Mouse Skin During The Acute Phase of Radiation Damage. *International Journal of Radiation biology*, 68.
- Rathee, P., H. Chaudhary, V. Kumar and K. Kohli. 2009. Mechanism of Action of Flavonoids as Anti-inflammatory Agents: A Review. *Bentham Science Publishers Ltd: Inflammation & Allergy Drug Targets*. Vol. 8, Hal. 229-235.
- Sabiston, D. C. 2008. *Buku Ajar Bedah Bagian I*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Schultz, G. S. 2007. *The Physiology of Wound Bed Preparation*. In Granick MS, Ganeli RL. *Surgical Wound Healing and Management*. Informa Health care USA Inc. Newa York, pp 1-5.
- Sjamsuhidayat R. and Jong W.D. 2005. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Edisi ke-2. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Silalahi, J. and C. Surbakti. 2015. Burn Wound Healing Activity of Hidrolized Virgin Coconut Oil. University of Sumatra Utara, Medan Indonesia.
- Siswanto, Budisetyawati dan F. Ernawati. 2013. Peran Gizi Mikro dalam Sistem Imunitas Tubuh. *Gizi Indonesia*, 36(1):57-64.
- Sumbayak, E.M. 2016. Fibroblas: Struktur dan Peranannya dalam Penyembuhan Luka. Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana. Jakarta.
- Sumiasih, N. N., Somoyani, N. K. dan N.W., Armani. 2016. Virgin Coconut Oil Mempercepat Penyembuhan Luka Perineum di Puskesmas Rawat Inap Kota Denpasar. *Jurnal Skala Husada Volume 13 Nomor 1 April 2016*: 39-49.
- Suriadi. 2004. *Perawatan Luka Edisi 1*. Jakarta: CV. Sagung Seto.
- Susanto, H., M. R. Indra dan S. Karyono. 2010. Pengaruh Sari Seduh Teh Hitam (*Camellia sinensis*) terhadap Ekspresi ERK1/2 PPAR γ pada Jalur MAPK (Mitogen Activated Proteinase) Jaringan Lemak Viseral Tikus Wistar dengan Diet Tinggi Lemak. *J. Exp. Life Sci* 2(2): 89-97.
- Suwiti, N.Y. 2010. Deteksi Histolohik Kesembuhan Luka pada Kulit Pasca Pemberian Daun Mengkudu (*Morinda Citrifilla*). *Bulletin Veteriner Udayana, Februari, 2 (1)*.

- Tamara, A.H.J., Rochmah, Y.S. dan M. Rochman. 2014. Pengaruh Aplikasi Virgin Coconut Oil Terhadap Peningkatan Jumlah Fibroblas pada Luka Pasca Pencabutan Gigi Rattus novergicus. *ODONTO Dental Journal, Desember, 1 (2)*.
- Tiwari, V. K. 2012. Burn Wound: How It Differs from Other Wounds. *Indian Journal of Plastic Surgery, 54: 364-373*.
- Tommila, M. 2010. *Granulation Tissue Formation*. University of Turku.
- Varma, S.R., I. Arumugam, K.B Pavan, M. Rafiq, M. Raghuraman, N. Dilip, R. Paramesh and T.O. Sivaprakasam. 2017. In Vitro Anti-Inflammatory and Skin Protective Properties of Virgin Coconut Oil. *Journal of Traditional and Complementary Medicine, 30: 1-10*.
- Widjajanto, E. 2005. Peranan Makrofag pada Proliferasi, Diferensiasi dan Apoptosis pada Proses Hematopoisis (Penelitian pada Limpa Janin dan Aspirat Sumsum Tulang Manusia). *Jurnal Kedokteran Brawijaya, April; 21(1)*.
- Winarsih, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Winarti, S. 2007. Proses Pembuatan VCO (Virgin Coconut Oil) Secara Enzimatis Menggunakan Papain Kasar. *Jurnal Teknologi Pangan, 8 (2): 136-141*.

