

**PENGARUH SALEP KOLAGEN HIDROLISAT IKAN  
SEBAGAI PENYEMBUHAN LUKA BAKAR  
DERAJAT IIB BERDASARKAN EKSPRESI  
*FIBROBLAST GROWTH FACTOR 2*  
(FGF-2) DAN FIBROBLAS  
PADA TIKUS PUTIH  
(*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Oleh:  
**LUTFIANA PRATIWI**  
145130101111046



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

**PENGARUH SALEP KOLAGEN HIDROLISAT IKAN  
SEBAGAI PENYEMBUHAN LUKA BAKAR  
DERAJAT IIB BERDASARKAN EKSPRESI  
*FIBROBLAST GROWTH FACTOR 2*  
(FGF-2) DAN FIBROBLAS  
PADA TIKUS PUTIH  
(*Rattus norvegicus*)**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:  
**LUTFIANA PRATIWI**  
**145130101111046**



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

**LEMBAR PENGESAHAN**

**Pengaruh Pemberian Salep Kolagen Hidrolisat Ikan Sebagai  
Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIB Berdasarkan  
Ekspresi *Fibroblast Growth Factor 2* (FGF-2) dan  
Fibroblas pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**

**Oleh:  
LUTFIANA PRATIWI  
145130101111046**

Setelah dipertahankan didepan Majelis Penguji  
pada tanggal 9 Juli 2018  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

**Dr. Sasangka Prasetyawan.MS**  
NIP. 19630404 198701 1 001

**drh. Dian Vidiastuti, M.Si**  
NIP. 19820207 200912 2 003

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Brawijaya

**Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES**  
NIP. 19600903 198802 2 001

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT Yang mengatur segala urusan manusia dan atas segala limpahan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul Pengaruh Pemberian Salep Kolagen Hidrolisat Ikan Sebagai Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIB Berdasarkan Ekspresi *Fibroblast Growth Factor 2* (FGF-2) dan Fibroblas pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). Sholawat dan salam semoga tetap tercurah kepada Nabi Agung Muhammad SAW. Selama penelitian dan penyusunan proposal skripsi ini, halangan, dan rintangan terus menerus terjadi pada diri penulis, sehingga dalam penulisannya melibatkan banyak pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terimakasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada:

1. Dr Sasangka Prasetyawan, MS. selaku pembimbing I yang banyak memberikan bimbingan, nasihat, dan arahan kepada penulis.
2. drh. Dian Vidiastuti, M.Si selaku pembimbing II yang banyak memberikan bimbingan, nasihat, dan arahan kepada penulis.
3. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan FKH UB yang selalu memberikan dukungan tiada henti demi kemajuan kampus tercinta.
4. drh. M.Arfan Lesmana, M.Sc selaku penguji I yang telah banyak memberikan saran dan kritik yang membangun kepada penulis.
5. Dhita Evi Aryani, S.Farm, Apt selaku penguji II yang telah banyak memberikan saran dan kritik yang membangun kepada penulis.
6. Ayah dan Ibu tercinta serta seluruh keluarga besar yang telah memberikan do'a, kasih sayang, dan dukungan yang tak terhingga kepada penulis.
7. Seluruh staf dan karyawan FKH, yang telah membantu proses administrasi dalam membuat tugas akhir.
8. Kelompok Iwak-iwak klub, Anis Aniqoh, Sabrina Doloksaribu, Ajeng Gradianti, Wafa Agya, dan teman-teman "together" yang telah menjadi pendorong dalam meraih kesuksesan di FKH UB.
9. Ucapan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian karya tulis ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Akhirnya hanya kepada Allah SWT kita kembalikan semua urusan dan semoga karya tulis ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, khususnya bagi penulis dan para pembaca pada umumnya, semoga Allah SWT meridhoi.

Malang, Juli 2018

Penulis



**LEMBAR PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Lutfiana Pratiwi

NIM : 145130101111046

Program Studi : Pendidikan Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi berjudul:

Pengaruh Pemberian Salep Kolagen Hidrolisat Ikan Sebagai Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIB Berdasarkan Ekspresi *Fibroblast Growth Factor 2* (FGF-2) dan Fibroblas pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*).

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dan skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis didaftar pustaka dalam skripsi ini
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jipaklan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dnegan segala kesadaran

Malang, Juli 2018

(Lutfiana Pratiwi)  
145130101111046

**Pengaruh Pemberian Salep Kolagen Hidrolisat Ikan Sebagai Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIB Berdasarkan Ekspresi *Fibroblast Growth Factor 2* (FGF-2) dan Fibroblas pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**

**ABSTRAK**

Luka bakar derajat IIB merupakan kondisi hilangnya jaringan akibat paparan panas meliputi seluruh epidermis dan sebagian dermis. Obat *gold standart* yang sering digunakan adalah *Silver sulfadiazine* yang relatif mahal dan bersifat toksik dalam jangka waktu lama sehingga diperlukan alternatif pengobatan dari bahan alami seperti kolagen hidrolisat bersumber dari ikan. Kolagen hidrolisat ikan bekerja dengan menarik sel imunitas yaitu makrofag yang akan memproduksi *growth factor* sehingga mampu mempercepat kesembuhan luka. Penelitian ini menggunakan rancangan RAL dengan sampel 24 ekor tikus putih jantan dengan berat badan 150-200g umur 8-12 minggu yang dibagi 4 kelompok yaitu kontrol positif, dan kelompok terapi kolagen hidrolisat ikan konsentrasi 5%, 7,5%, 10% yang diterapi dua kali sehari selama 10 hari. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi salep kolagen hidrolisat ikan 10% adalah konsentrasi terbaik dari semua kelompok terapi yaitu mampu meningkatkan ekspresi FGF-2 ( $36.65 \pm 1.24$ ) % serta mampu meningkatkan jumlah fibroblas ( $40.06 \pm 1.24$ ) sel dalam fase kesembuhan luka. Namun kedua hasil yang diperoleh dari konsentrasi salep kolagen hidrolisat 10% masih kurang efektif dibandingkan dengan obat *Silver Sulvadiazine* dalam meningkatkan ekspresi FGF-2 ( $41.69 \pm 0.95$ ) % dan meningkatkan jumlah fibroblas ( $46.50 \pm 1.66$ ) sel. Hasil penelitian menunjukkan bahwa salep kolagen hidrolisat ikan dapat digunakan namun masih kurang efektif dikarenakan kedua obat terapi memiliki mekanisme kerja yang berbeda.

**Kata Kunci:** Penyembuhan luka bakar derajat IIB, kolagen hidrolisat ikan, FGF-2, fibroblas



**Effect of Hydrolyzed Fish Collagen Ointment to Healing Burns Level IIB by  
Fibroblast Growth Factor 2 (FGF-2) and Fibroblast in Rats  
(*Rattus norvegicus*)**

**ABSTRACT**

Burns level IIB are a condition of tissue loss due to exposure to heat covering the entire epidermis and part of the dermis. The most commonly used gold standard drug (*Silver sulfadiazine*) is expensive cost and toxic in the long term that an alternative treatment of natural resources such as hydrolyzed collagen sourced from fish. Hydrolyzed fish collagen act by attracting immune cells such as macrophages that will produce growth factor to accelerate wound healing. This experimental study by ANOVA with 24 samples of 8-12 weeks old male rats (*Rattus norvegicus*) weight 150-200g divided into 4 groups as positive control, and therapy group based of hydrolyzed fish collagen concentration fish 5%, 7,5%, 10% which were treated twice a day for 10 days. The results of the study showed that the concentration of 10% hydrolyzed fish collagen ointment was the best concentration of all therapy groups that was able to increase the expression of FGF-2 ( $36.65 \pm 1.24$ ) % and was able to increase the number of fibroblasts ( $40.06 \pm 1.24$ ) in the wound healing phase. However, both results obtained from the 10% hydrolyzed fish collagen ointment concentration were less effective than *Silver Sulvadiazine* ointment, showed by the increasing of the FGF-2 expression ( $41.69 \pm 0.95$ ) % and increasing of fibroblasts ( $46.50 \pm 1.66$ ). The results showed that collagen can be used but still less effective because of the difference of mechanism of action between the two drugs.

**Keywords** : Healing burns level IIB , hydrolyzed fish collagen, FGF-2, fibroblast



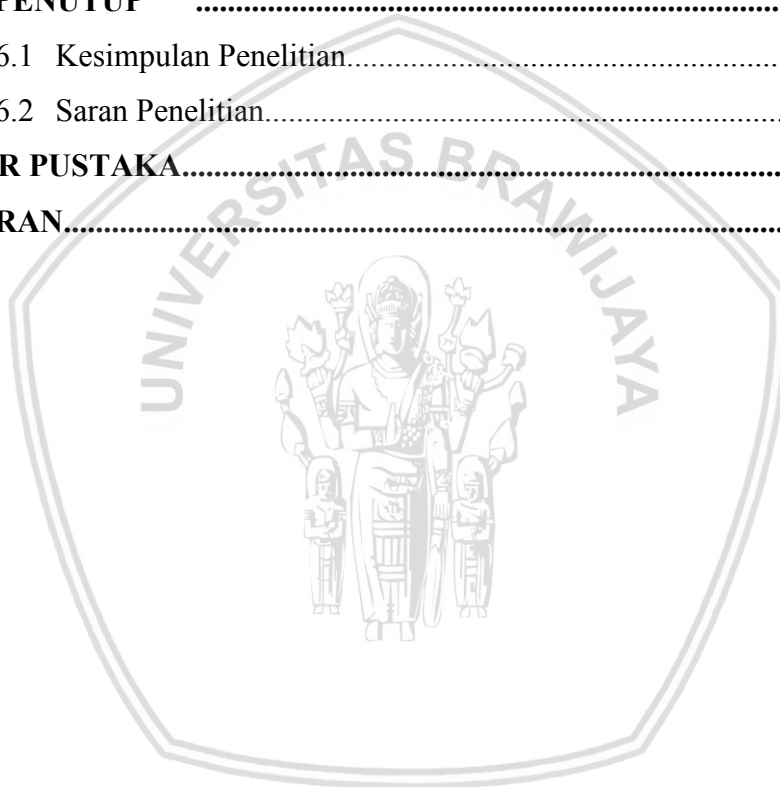
## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>ii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>iii</b>
<b>LEMBAR PERNYATAAN .....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG.....</b>	<b>xiv</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Batasan Penelitian.....	4
1.3 Tujuan .....	5
1.4 Manfaat .....	5
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
2.1 Luka Bakar .....	6
2.1.1 Definisi.....	6
2.1.2 Etiologi.....	6
2.1.3 Klasifikasi.....	7
2.1.4 Patofisiologi.....	12
2.2 Zona Kerusakan Jaringan Luka Bakar.....	13
2.3 Proses Penyembuhan Luka.....	14
2.3.1 Definisi.....	14
2.3.2 Fase Penyembuhan Luka.....	15
2.3.3 Faktor Yang Mempengaruhi Penyembuhan Luka.....	19



2.4 Perawatan Luka .....	21
2.5 Fibroblas.....	22
2.5.1 Pengertian Fibroblas.....	22
2.5.2 Morfologi Fibroblas.....	22
2.5.3 Histologi Umum Fibroblas.....	23
2.5.4 Fungsi Fibroblas.....	24
2.6 <i>Fibroblast Growth Factor 2</i> (FGF-2) .....	25
2.7 Kolagen hidrolisat Ikan.....	27
2.8 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	28
<b>BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN .....</b>	<b>30</b>
3.1 Kerangka Konsep .....	30
3.2 Hipotesis Penelitian .....	33
<b>BAB 4. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>34</b>
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	34
4.2 Sampel Penelitian.....	34
4.3 Rancangan Penelitian.....	34
4.4 Variabel Penelitian.....	36
4.5 Alat dan Bahan.....	36
4.6 Tahapan Penelitian.....	37
4.7 Prosedur Kerja.....	38
4.7.1 Persiapan hewan Coba.....	38
4.7.1 Perlakuan Luka Bakar Derajat IIB.....	38
4.7.2 Pembuatan Kolagen Hidrolisat Ikan.....	39
4.7.3 Pembuatan Salep Kolagen Hidrolisat Ikan.....	40
4.7.4 Terapi Salep Kolagen Hidrolisat Ikan.....	41
4.7.5 Euthanasi dan Isolasi Kulit.....	41
4.7.6 Perhitungan Jumlah Fibroblas.....	41
A. Pembuatan Preparat Histopatologi kulit dan pewarnaan HE.....	43
B. Tahapan Perhitungan Jumlah Fibroblas.....	44
4.7.7 Ekspresi FGF-2 dengan Immunohistokimia (IHK).....	44

4.7.8 Analisis Data.....	45
<b>BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>46</b>
5.1 Efek Pemberian Salep Kolagen Hidrolisat Ikan pada Tikus Pasca Luka Bakar Derajat IIB terhadap Ekspresi <i>Fibroblast Growth Factor 2 (FGF-2)</i> .....	50
5.1 Efek Pemberian Salep Kolagen Hidrolisat Ikan pada Tikus Pasca Luka Bakar Derajat IIB terhadap Jumlah Fibroblas.....	54
<b>BAB 6. PENUTUP .....</b>	<b>59</b>
6.1 Kesimpulan Penelitian.....	59
6.2 Saran Penelitian.....	59
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>60</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>67</b>



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
4.1 Rancangan penelitian.....	35
4.2 Formulasi salep kolagen hidrolisat ikan.....	40
5.1 Data ekspresi FGF-2 .....	51
5.2 Data jumlah fibroblas hari .....	55



## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
2.1 Kedalaman paparan pada luka bakar derajat I .....	8
2.2 Kedalaman paparan pada luka bakar derajat IIA.....	9
2.3 Kedalaman paparan pada luka bakar derajat IIB.....	10
2.4 Kedalaman paparan pada luka bakar derajat III.....	10
2.5 Zona kerusakan jaringan pada luka bakar .....	13
2.6 Fase-fase pada proses kesembuhan luka beserta waktunya.....	15
2.7 Morfologi sel fibroblas dengan pewarnaan hemaktosilin eosin .....	
perbesaran 400x.....	22
2.8 Gambaran Histopatologi sel fibroblas dengan perbesaran .....	
400x.....	24
2.9 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	28
5.1A Gambaran makroskopis perkembangan kesembuhan jaringan kulit pada hari ke-10 pasca induksi luka bakar derajat IIB pada kelompok kontrol positif .....	46
5.1B Gambaran makroskopis perkembangan kesembuhan jaringan kulit pada hari ke-10 pasca induksi luka bakar derajat IIB pada kelompok terapi salep hidrolisat kolagen ikan 5% .....	46
5.1C Gambaran makroskopis perkembangan kesembuhan jaringan kulit pada hari ke-10 pasca induksi luka bakar derajat IIB pada kelompok terapi salep hidrolisat kolagen ikan 7,5% .....	47
5.1D Gambaran makroskopis perkembangan kesembuhan jaringan kulit pada hari ke-10 pasca induksi luka bakar derajat IIB pada kelompok terapi salep hidrolisat kolagen ikan 10% .....	47
5.2 Gambaran mikroskopis ekspresi FGF-2 pada jaringan dermis kulit tikus metode immnohistokimia perbesaran (400x) .....	51
5.3 Gambaran mikroskopis jumlah sel fibroblas jaringan kulit tikus dengan pengecatan hematoxylen eosin perbesaran (400x) .....	54



## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1 Sertifikat Laik Etik .....	67
2 Surat Keterangan Kandungan Produk PEPTIPLUS® XF .....	68
3 Kerangka Operasional Penelitian.....	70
4 Prosedur Pembuatan Salep Kolagen Hidrolisat Ikan.....	71
5 Formulasi salep kolagen hidrolisat ikan.....	72
6 Prosedur Pembuatan Luka Bakar Derajat IIB.....	73
7 Prosedur euthanasi dan isolasi kulit.....	74
8 Pewarnaan Immunohistokimia (IHK).....	75
9 Pembuatan Preparat HE.....	76
10 Data IHK Ekspresi FGF-2 (%).....	77
11 Hasil Uji ANOVA Ekspresi <i>Fibroblast Growth Factor 2</i> (FGF-2).....	78
12 Data Jumlah Sel Fibroblas (Sel/bidang pandang).....	82
13 Hasil uji ANOVA jumlah fibroblas.....	83
14 Dokumentasi kesembuhan luka.....	87
15 Dokumentasi penelitian.....	88

## DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

%	: Persen
$\mu\text{m}$	: mikrometer
ABA	: <i>American Burn Association</i>
a-FGF	: <i>Acid Fibroblast Growth Factor</i>
ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
b-FGF	: <i>Basic Fibroblats Growth Factor</i>
BB	: Berat Badan
BNJ	: Beda Nyata Jujur
CH <sub>3</sub> CHOOH	: Asam Asetat
cm	: Sentimeter
cm <sup>2</sup>	: Sentimeter persegi
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
ECM	: <i>Extracellular Matrix</i>
DAB	: <i>Diamino Benzidine</i>
DFA	: <i>Paraformaldehyde</i>
FGF-2	: <i>Fibroblast Growth Factor-2</i>
g	: gram
HE	: Hematoxilin-eosin
IgG	: Immunoglobulin G
IHK	: Immunohistokimia
IM	: Intramuscular
K+	: Kontrol Positif
kg	: Kilogram
M	: Mol
mg	: Miligram
mL	: Mililiter
mm	: Milimeter
MMP	: <i>Matrix Metalloproteinase</i>
NaCl	: <i>Natrium Chloride</i>



NaOH	: <i>Sodium Hydroxide</i>
NS	: <i>Netral saline</i>
P1	: <i>Perlakuan satu</i>
P2	: <i>Perlakuan dua</i>
P3	: <i>Perlakuan tiga</i>
PABA	: <i>Para Amino Benzoat Acid</i>
PBS	: <i>Phosphat Buffer Saline</i>
PDGF	: <i>Platelet Derivat Growth Factor</i>
pH	: <i>Potential of Hydrogen</i>
PMN	: <i>Polimorfo nukleat</i>
ppm	: <i>Part-per million</i>
rpm	: <i>Revolution per minutes</i>
SA-HRP	: <i>Strep Avidin Horse Radish Peroxidase</i>
SSD	: <i>Silver Sulfadiazine</i>
SPSS	: <i>Statistical Product and Service Solution</i>
TGF- $\alpha$	: <i>Transforming Growth Factor alpha</i>
TGF- $\beta$	: <i>Transforming Growth Factor beta</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Luka bakar merupakan suatu bentuk kerusakan atau kehilangan jaringan yang disebabkan adanya kontak langsung dengan sumber panas, paparan listrik, zat kimia, maupun radiasi (Rahayuningsih, 2012). Menurut Sarimin (2009), luka bakar derajat kedua paling banyak ditemukan dengan jumlah 36 kasus atau 46,7% dari seluruh kasus luka bakar yang didapatkan. Luka bakar derajat IIB mengalami kerusakan pada seluruh lapisan epidermis dan 1/2 sampai 7/8 lapisan dermis dengan kelenjar sebacea, dan kelenjar keringat, serta folikel rambut mudah lepas (Kamolz *et al.*, 2012).

Luka bakar dalam penyembuhannya membutuhkan penanganan yang sulit dengan pembiayaan yang relatif tinggi (Yovita, 2008). Menurut data *American Burn Association* (ABA) tahun 2014, penyebab luka bakar oleh paparan api sebanyak 43%, 34% oleh lepuhan, 4% listrik, 3% bahan kimia, dan 7% akibat lainnya. Luka bakar banyak terjadi pada negara dengan penghasilan yang rendah dan menengah yaitu Regio Asia Tenggara sekitar 84.000 kasus (WHO, 2012). Menurut Departemen Kesehatan Republik Indonesia (2013), prevalensi luka bakar di Indonesia sebesar 2,2% dengan prevalensi tertinggi di provinsi Nanggroe Aceh Darussalam dan Kepulauan Riau yaitu sebesar 3,8%.

Penyembuhan luka merupakan proses kompleks dan dinamis dari perbaikan jaringan yang melibatkan empat fase yaitu koagulasi, inflamasi, proliferasi, dan remodeling. Fase koagulasi diawali dengan adanya cedera vaskular yang diikuti dengan adhesi trombosit dengan kolagen pada dinding pembuluh darah. Fase

inflamasi terjadi destruksi dan penghancuran debris oleh neutrofil. Pada fase proliferasi, sel radang akan menghasilkan beberapa faktor pertumbuhan yang membantu dalam proses kesembuhan luka seperti *Fibroblast Growth Factor 2* (FGF-2), *Epidermal Growth Factor* (EGF), dan *Vascular Endotel Growth Factor* (VEGF).

*Fibroblast Growth Factor 2* (FGF-2) memiliki peran dalam menstimulasi proliferasi dan migrasi sel fibroblas (Bliska *et al.*, 2013). Sel fibroblas akan terbentuk dengan jumlah yang terus meningkat dan akan bermigrasi ke area luka. Meningkatnya jumlah sel fibroblas akan meningkatkan jumlah kolagen, dimana kolagen merupakan protein penting dalam pembentukan formasi *Extracellular Matrix* (ECM) sehingga akan mempercepat proses penyembuhan luka. Pada fase maturasi, serabut kolagen menyebar dengan saling menyatu dan membentuk kekuatan jaringan baru dalam kurun waktu bertahun-tahun (Permatasari, 2016).

Obat topikal yang menjadi *gold standart* pengobatan luka bakar derajat IIB di pasaran yaitu *Silver sulfadiazine*. Menurut Fuadi (2015) *Silver sulfadiazine* bersifat antibakteri yang mampu menghilangkan infeksi sekunder serta mampu menarik sel imunitas untuk menghasilkan sitokin dan *growth factor* dalam mempercepat proses kesembuhan luka. Namun beberapa efek obat tersebut telah dilaporkan selain harga yang relatif mahal, tidak dapat diberikan dalam jangka panjang karena dapat bersifat toksik pada luka (Hosseinimehr *et al.*, 2010).

Alternatif pengobatan luka bakar dapat memanfaatkan bahan alam yaitu kolagen hidrolisat yang bersumber dari ekosistem perairan (*marine collagen*) yaitu ikan (Mothumari, 2017). Kolagen hidrolisat atau gelatin merupakan hasil dari

proses denaturasi kolagen yang bersumber dari tulang, kulit maupun jaringan pada ikan, sapi, maupun babi (Sibilia *et al.*, 2015). Menurut Yamamoto *et al.* (2014) kolagen ikan memiliki biokompatibilitas yang baik, sifat antigenik yang rendah, dan *biodegradability*. Penggunaan kolagen hidrolisat dari sumber ikan lebih dipilih karena berdasarkan berat molekulnya yang lebih kecil (0,8-100kDa) dibandingkan dengan kolagen yang belum mengalami denaturasi sehingga akan lebih efektif dalam proses absorpsi molekul ke dalam jaringan kulit (Chai *et al.*, 2010). Selain hal tersebut, sumber kolagen hidrolisat seperti babi dan sapi menjadi masalah tersendiri bagi para pemeluk agama Islam dan Hindu, serta menghindari adanya penyakit-penyakit seperti *Bovine Spongiform Encephalopathy* (BSE), *Mad Cow Disease* (sapi gila) yang menyerang banyak hewan di negara lain serta dapat membahayakan konsumen (Fatimah dan Jannah, 2008).

Penatalaksanaan luka bakar biasa dilakukan dengan memberikan obat secara topikal. Menurut Isofrah dkk. (2012), pengobatan luka bakar secara topikal lebih efektif karena obat akan mudah diserap kulit dan fungsinya dalam melembabkan bertahan lebih lama. Berdasarkan sifat-sifat tersebut, salep kolagen hidrolisat ikan mampu mempertahankan kelembahan pada kulit sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan pada luka bakar.

Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai pemanfaatan salep kolagen hidrolisat ikan dalam kesembuhan luka bakar dilihat dari adanya ekspresi *Fibroblast Growth Factor 2* (FGF-2) dan peningkatan jumlah fibroblas pada hewan model tikus putih (*Rattus norvegicus*).

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian salep kolagen hidrolisat ikan dapat meningkatkan FGF-2 pada terapi hewan model luka bakar derajat IIB ?
2. Apakah pemberian salep kolagen hidrolisat ikan dapat meningkatkan jumlah fibroblas pada terapi hewan model luka bakar derajat IIB ?

## 1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan rumusan masalah yang telah disebutkan, maka penelitian yang dilakukan dibatasi pada :

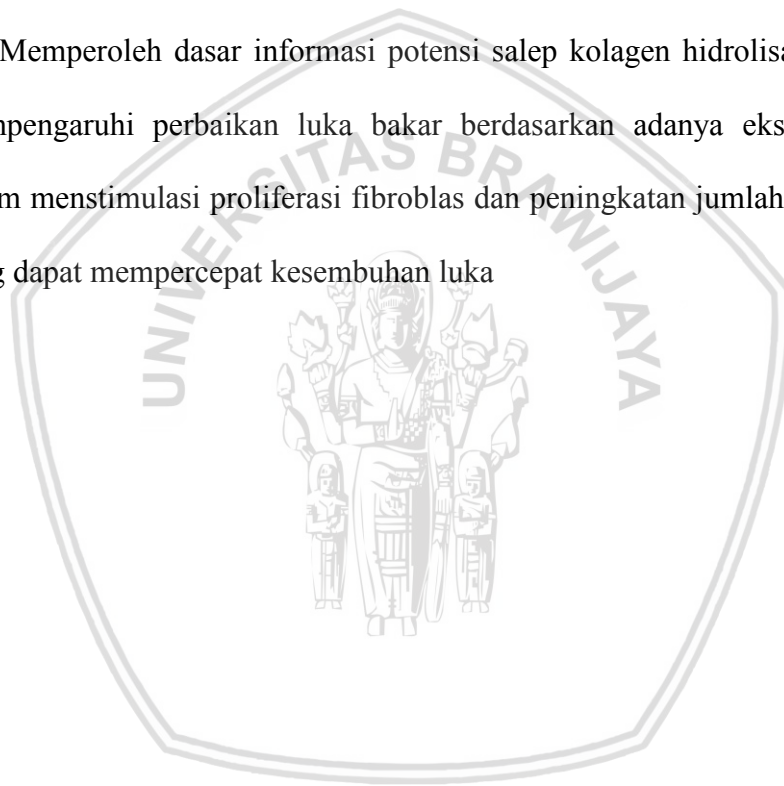
1. Hewan coba yang digunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan sehat dengan berat badan 150-200 gram, umur 8-12 minggu yang telah mendapatkan laik etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya dengan No:885-KEP-UB (**Lampiran 1**)
2. Pembuatan luka bakar derajat IIB menggunakan plat besi ukuran 2x4 cm<sup>2</sup> dengan ketebalan 2 mm, dicelupkan dalam air mendidih dengan suhu 100°C selama 15 menit dan ditempelkan pada bagian dorsal tikus selama 15 detik (**Lampiran 6**)
3. Dosis terapi salep kolagen hidrolisat ikan diberikan kepada hewan coba tikus putih model hewan bakar derajat IIB dengan konsentrasi 5%, 7,5%, dan 10% diberikan sebanyak 0,5 g dua kali sehari selama terapi 10 hari.
4. Parameter yang amati dalam penelitian ini yaitu ekspresi FGF-2 dengan metode imunohistokimia dan gambaran histopatologi fibroblas secara kuantitatif menggunakan mikroskop.

#### 1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui efek terapi salep kolagen hidrolisat ikan pada hewan model luka bakar terhadap peningkatan ekspresi FGF-2
2. Mengetahui efek terapi salep kolagen hidrolisat ikan pada hewan model luka bakar terhadap peningkatan jumlah fibroblas

#### 1.5 Manfaat Penelitian

Memperoleh dasar informasi potensi salep kolagen hidrolisat ikan dapat mempengaruhi perbaikan luka bakar berdasarkan adanya ekspresi FGF-2 dalam menstimulasi proliferasi fibroblas dan peningkatan jumlah sel fibroblas yang dapat mempercepat kesembuhan luka







## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Luka Bakar

#### 2.1.1 Definisi

Luka bakar adalah kehilangan sebagian jaringan yang disebabkan adanya kontak langsung dengan sumber panas. Adapun jenis sumber panas yaitu seperti air, api, bahan kimia, listrik, dan radiasi (Sheridan, 2012). Luka bakar memunculkan potensi perkembangan mikroorganisme karena sifat lukanya yang lembab, debris dan serum menjadi nutrient, serta cedera luka itu sendiri menyebabkan adanya gangguan aliran darah sehingga respon peradangan kurang efektif (Kumar *et al.*, 2008). Hal tersebut menyebabkan luka bakar menjadi salah satu luka dengan tingkat mortalitas dan morbiditas yang tinggi serta memerlukan perawatan khusus dari fase awal hingga fase lanjut.

#### 2.1.2 Etiologi

Menurut Kamolz *et al.* (2012), penyebab luka bakar dapat dikelompokkan sebagai berikut:

##### 1. Luka Bakar Termal

Luka bakar termal merupakan luka bakar yang disebabkan adanya kontak dengan sumber panas seperti cairan panas, api, atau objek-objek panas lainnya.

##### 2. Luka Bakar Elektrik

Luka bakar elektrik merupakan luka bakar yang terpapar oleh panas yang digerakkan melalui energi listrik yang dihantarkan melalui

tubuh. Derajat keparahan luka bakar elektrik dipengaruhi oleh lamanya kontak, tingginya tegangan listrik, dan cara gelombang tersebut sampai ke tubuh

### 3. Luka Bakar Kimia

Luka bakar kimia merupakan luka bakar yang disebabkan oleh kontak jaringan kulit dengan bahan kimia yang bersifat panas atau yang memiliki sifat membakar seperti basa kuat dan asam kuat. Perluasan dan kedalaman luka dipengaruhi oleh konsentrasi zat kimia, lamanya kontak, serta luasnya jaringan yang terpapar.

### 4. Luka Bakar Radiasi

Luka bakar radiasi yaitu luka bakar yang disebabkan oleh terpaparnya kulit dengan zat-zat radioaktif. Jenis luka bakar ini sering terjadi pada penggunaan radiasi ion pada industri atau sumber radiasi untuk keperluan terapeutik pada dunia medis. Paparan sinar matahari dengan waktu yang cukup lama juga termasuk dalam paparan luka bakar radiasi.

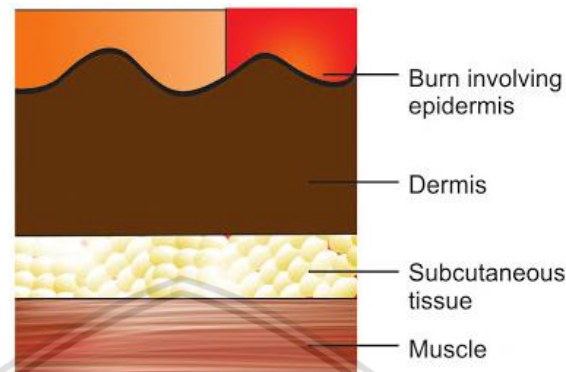
## 2.1.3 Klasifikasi

### 1. Berdasarkan Kedalaman Kerusakan Jaringan Luka Bakar

#### A. Luka bakar derajat I (*Superficial burn*)

Kerusakan yang terjadi pada luka bakar derajat I yaitu pada lapisan epidermis bagian superfisial (Gambar 2.1) Adapun gejala yang dimunculkan yaitu seperti hiperemik, mengering, perubahan warna merah terang hingga merah muda, melepuh dalam waktu kurang lebih

24 jam setelah terbakar. Tidak menimbulkan bula namun muncul rasa nyeri akibat ujung-ujung saraf sensorik yang teriritasi.



**Gambar 2.1.** Kedalaman paparan pada luka bakar derajat I (Marg *et al.*, 2013)

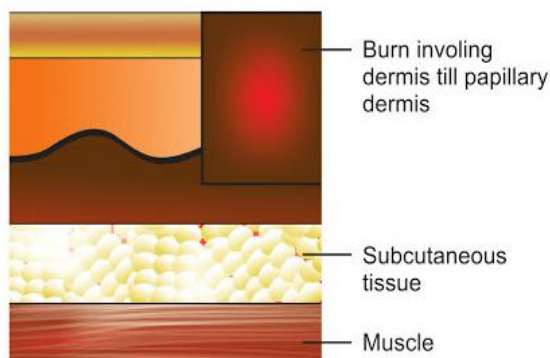
Contoh luka bakar derajat I yaitu seperti terpaparnya kulit oleh sinar matahari dalam waktu yang cukup lama. Penyembuhan akan terjadi secara spontan dalam waktu 5-10 hari tanpa jaringan parut dengan fungsi fisiologis yang normal (Marg *et al.*, 2013).

#### B. Luka bakar derajat II (*partial thickness burn*)

Luka bakar derajat II dapat dibedakan menjadi dua jenis yaitu:

##### 1. Derajat IIA atau dangkal (*superfisial partial-thickness burn*)

Kerusakan luka bakar derajat IIA yaitu pada seluruh lapisan epidermis dan lapisan dermis bagian superfisial. Bagian dermis seperti kelenjar keringat, kelenjar sebacea, folikel rambut tidak mengalami kerusakan (Gambar 2.2) namun disertai dengan adanya nyeri yang cukup berat.

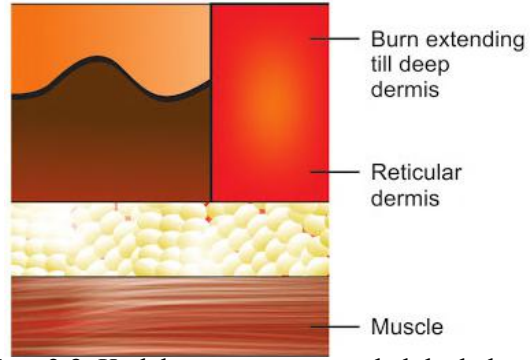


**Gambar 2.2** Kedalaman paparan pada luka bakar derajat IIA (Marg *et al.*, 2013)

Bula terbentuk beberapa jam setelah terpapar dan dapat dibedakan dengan derajat I superfisial setelah 12 sampai 24 jam. Timbul warna kemerahan dan basah pada bekas bula yang dihilangkan. Penyembuhan secara spontan akan terjadi dalam kurang lebih 10-14 hari (Marg *et al.*, 2013)

## 2. Derajat IIB atau dalam (*deep partial-thickness burn*)

Menurut (Marg *et al.*, 2013), luka bakar dengan derajat IIB mengalami kerusakan pada seluruh lapisan epidermis dan 1/2 sampai 7/8 lapisan dermis. Bagian appendices dermis seperti folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar sebacea sebagian mengalami kerusakan namun sebagian lainnya dalam keadaan utuh (**Gambar 2.3**). Gejala yang dimunculkan yaitu luka berwarna merah muda sampai merah terang, hingga putih, konsistensi lunak, adanya nyeri, kulit mengering, timbul bula dan terjadi edema.

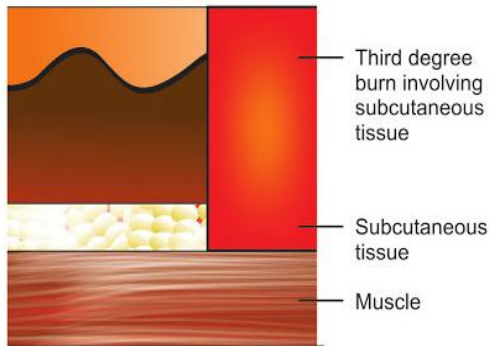


**Gambar 2.3.** Kedalaman paparan pada luka bakar derajat IIB (Marg *et al.*, 2013)

Proses penyembuhan lebih lama yaitu 14 sampai 21 hari bahkan lebih dari satu bulan, hal ini dipengaruhi oleh tingkat keparahan apendis kulit yang mengalami kerusakan (Sheridan, 2012).

C. Luka bakar derajat III (*full thickness burn*)

Kerusakan yang terjadi pada luka bakar derajat III yaitu pada seluruh lapisan epidermis dan dermis serta lapisan yang lebih dalam lagi seperti bagian fasia, otot, tendon, dan tulang (Marg *et al.*, 2013). Apendises kulit seperti folikel rambut, kelenjar sebacea, kelenjar keringat mengalami kerusakan total (Gambar 2.4). Luka mengakibatkan perubahan warna menjadi abu-abu, pucat, kering, namun bisanya tidak disertai bula.



**Gambar 2.4.** Kedalaman paparan pada luka bakar derajat III (Marg *et al.*, 2013)



Bentuk luka lebih dalam dibandingkan jaringan epidermis dan dermis (eskar), tidak adanya rasa nyeri karena serabut saraf sensorik mengalami kerusakan atau kematian. Contoh luka bakar derajat III yaitu tersengat arus listrik. Proses penyembuhan akan terjadi lebih lama dan membutuhkan pengobatan dari luar, hal ini karena tidak adanya reaksi spontan baik pada appendises kulit, dasar luka maupun tepi luka (Frisca dkk., 2013)

## **2. Berdasarkan Luas Kerusakan Jaringan Luka Bakar**

Menurut Nugroho (2012), luka bakar berdasarkan luas kerusakan jaringan dibagi menjadi tiga kelompok yaitu sebagai berikut,

### **A. Luka bakar ringan**

Luka bakar yang dapat dikategorikan menjadi luka bakar ringan adalah luka bakar derajat I, luka bakar derajat II seluas kurang dari 15%, serta luka bakar derajat III kurang dari 2%.

### **B. Luka bakar sedang**

Luka bakar yang termasuk dalam luka bakar sedang adalah luka bakar derajat II 15-25%, dan luka bakar derajat III kurang dari 10%.

### **C. Luka bakar berat**

Luka bakar derajat berat memiliki karakteristik yaitu luka bakar derajat II seluas  $>30\%$  serta derajat luka bakar derajat III seluas  $>10\%$ .

#### 2.1.4 Patofisiologi

Luka bakar merupakan hasil dari pengalihan energi dari suatu sumber panas terhadap tubuh. Derajat luka bakar dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu konduksi jaringan yang terkena serta waktu kontak dengan sumber panas. Paparan sumber panas akan mengakibatkan cedera pada jaringan dan terjadi syok pada penderita. Pembuluh kapiler yang terpajan suhu tinggi mengalami kerusakan yang mengakibatkan cairan intravaskuler keluar dari lumen pembuluh darah. Hal tersebut juga menyebabkan meningkatnya permeabilitas, penimbunan jaringan masif di interstitial sehingga terjadi hipovolemik. Sel-sel darah yang terdapat di dalam pembuluh darah juga mengalami kerusakan yang dapat menyebabkan gejala anemia (Granick and Gamelli, 2007). Menurut David (2007), sel-sel tubuh dapat menahan temperatur sampai 44°C tanpa kerusakan yang bermakna, di atas 51°C protein akan terdenaturasi dan di ikuti dengan kerusakan jaringan yang cepat, serta pada temperatur 70°C mengakibatkan kerusakan seluler yang sangat cepat.

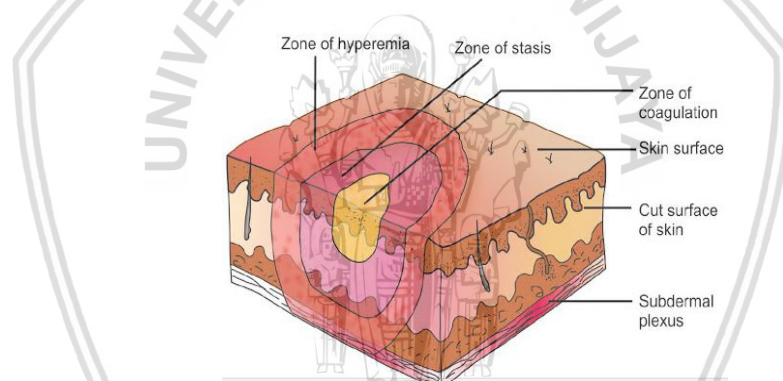
Meningkatnya permeabilitas pada area yang terpapar menimbulkan edema dan terbentuknya bula yang mengandung banyak elektrolit sehingga akan menyebabkan berkurangnya volume cairan intravaskuler (Yovita, 2008). Berkurangnya volume intravaskuler juga disebabkan karena cairan merembes dari ruang intravaskular ke interstitial. Volume cairan intravaskuler mengalami defisit sehingga timbul ketidakmampuan dalam menyelenggarakan proses transportasi oksigen ke jaringan (syok). Kerusakan jaringan akibat luka bakar akan menyebabkan kehilangan cairan karena adanya penguapan



berlebih. Selanjutnya tubuh akan melakukan kompensasi jika derajat luas luka bakar di bawah 20%, namun jika lebih dari 20% maka akan terjadi syok hipovolemik dengan gejala pucat, dingin, nadi lebih cepat, tekanan darah menurun, dan produksi urin berkurang. Reaksi inflamasi terjadi secara perlahan dengan waktu maksimal yaitu 8 jam setelah terpapar (James, 2008).

## 2.2 Zona Kerusakan Jaringan pada Luka Bakar

Menurut Sarabahi dan Tiwari (2010), teori *Jackson Burn Wound Mode* bahwa zona kerusakan jaringan pada luka bakar dikategorikan menjadi tiga yaitu zona koagulasi, zona statis, dan zona hiperemi.



**Gambar 2.5.** Zona kerusakan jaringan pada luka bakar (Kamolz *et al.*, 2012)

### 1. Zona Koagulasi (Zona Nekrosis)

Zona koagulasi merupakan zona sentral yang langsung mengalami kerusakan dan terjadi koagulasi protein, jaringan ini mengalami nekrosis beberapa saat setelah kontak langsung dengan sumber panas. Cedera pada zona koagulasi tidak dapat kembali meskipun dengan beberapa pengobatan.

## 2. Zona Statis

Zona statis merupakan daerah yang berada diluar zona koagulasi. Kerusakan pada zona statis meliputi kerusakan pembuluh darah disertai dengan kerusakan trombosit dan leukosit menyebabkan adanya gangguan sirkulasi dalam transportasi oksigen. Selain hal tersebut terjadi respon alami tubuh yaitu berupa peradangan diikuti dengan perubahan permeabilitas kapiler. Cedera pada zona statis berlangsung selama 12-24 jam dengan tahap akhir berupa nekrosis (Kamolz *et al.*, 2012).

## 3. Zona Hiperemi

Zona hiperemi merupakan daerah di luar zona statis dan menjadi zona paling luar. Zona tersebut mengalami reaksi vasodilatasi serta tidak melibatkan reaksi seluler (Kamolz *et al.*, 2012).

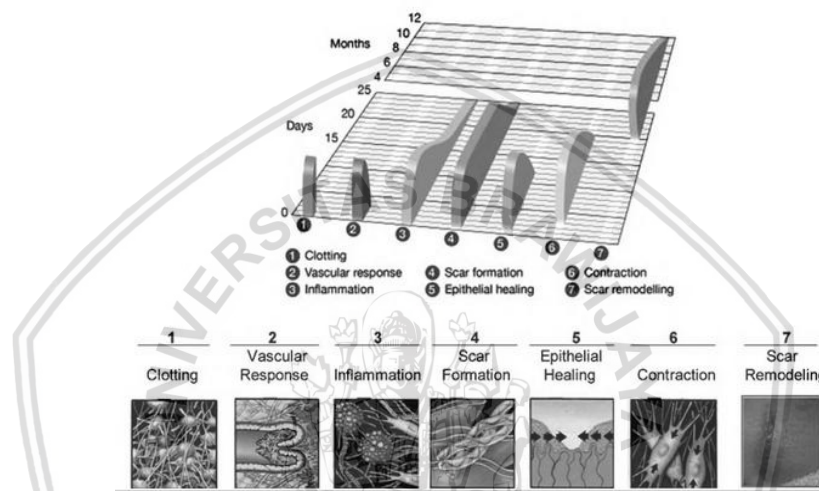
## 2.3 Proses Penyembuhan Luka

### 2.3.1 Definisi

Proses penyembuhan luka merupakan suatu proses yang berjalan secara kompleks dengan melibatkan banyak sel. Secara umum proses kesembuhan luka yaitu dimulai dari fase inflamasi, proliferasi, maturasi dan remodeling. Kesembuhan luka dipengaruhi oleh kedalaman luka, keluasan luka atau keparahan luka, serta kemampuan dari sel dan jaringan dalam melakukan regenerasi ke struktur normal melalui pertumbuhan sel baru (Sheridan, 2012).

### 2.3.2 Fase Penyembuhan Luka

Kesembuhan luka merupakan suatu proses perbaikan luka untuk mendapatkan kembali kondisi yang normal. Secara garis besar fase penyembuhan luka dibagi menjadi empat fase yaitu fase koagulasi, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling (Yovita, 2008)



**Gambar 2.6.** Fase-fase pada proses kesembuhan luka beserta waktunya (Granick and Gamelli, 2007)

#### 1. Fase koagulasi

Fase koagulasi (hemostatis) atau *clotting* dimulai sejak pertama kali luka terjadi. Terdapat tiga proses penting selama fase koagulasi meliputi kontraksi otot polos pembuluh darah (vasokonstriksi), agregasi trombosit dan koagulasi pembuluh darah. Vasokonstriksi terjadi selama kurang lebih 5-10 menit dan bekerja dengan cara memperlambat aliran darah sehingga meminimalisir kehilangan darah (Joseph and Kloth, 2010). Trombosit akan teraktivasi ketika terjadi kerusakan pembuluh darah membentuk sumbat trombosit serta menutup vaskular yang terbuka (*clot*). Trombosit yang

teraktivasi akan mensekresikan beberapa substansi seperti *Platelet Derivat Growth Factor* (PDGF) dan *Transforming Growth Factor- $\beta$*  (TGF- $\beta$ ) yang berperan dalam menginduksi terjadinya kemotaksis. Tahap terakhir yaitu terjadinya koagulasi dengan membentuk *fibrin plug* yang akan mengisi area luka yang terpajan. Koagulasi darah menyediakan proses perubahan fibrinogen (protein plasma yang dihasilkan oleh hati dan memiliki sifat dapat larut) menjadi fibrin (molekul tidak larut berbentuk benang). Molekul fibrin yang sudah terbentuk akan melekat pada pembuluh darah dan saling terpaat membentuk jala longgar dengan eritrosit maupun trombosit. Kombinasi benang-benang fibrin, eritrosit dan trombosit tersebut akan membentuk *fibrin plug* (Granick and Gamelli, 2007).

## 2. Fase inflamasi

Fase inflamasi merupakan tahap yang terjadi setelah fase koagulasi, dimana pada fase ini merupakan fase peradangan yang berlangsung selama 1-3 hari pasca kelukaan (Gambar 2.6). Fungsi fase inflamasi yaitu untuk mengangkat debris dan menghilangkan jaringan yang telah mati serta mencegah adanya infeksi mikrobial (Joseph and Kloth, 2010). Fase ini dimulai dari terjadinya vasodilatasi dan menyebabkan peningkatan permeabilitas kapiler oleh vasodilator seperti prostaglandin, bradikinin dan leukotrin. Reaksi kemotaksis faktor pertumbuhan seperti PDGF dan TGF- $\beta$  akan menarik makrofag dan menghasilkan *growth factor* dan

menginfiltrasi ECM untuk mengisi kavitas luka. Neutrofil merupakan leukosit pertama yang bermigrasi pada luka dan umumnya ditemukan pada hari ke-1 hingga hari ke-3 pasca terjadi luka. Peran neutrofil dan makrofag yaitu untuk memfagositosis bakteri, menghilangkan debris ekstraseluler, serta menstimulasi proses proliferasi dengan menghasilkan beberapa faktor pertumbuhan seperti *Fibroblast Growth Factor* (FGF), *Transforming Growth Factor- $\alpha$*  (TGF- $\alpha$ ), *Epidermal Growth Factor* (EGF), serta *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF).

### 3. Fase Proliferasi

Fase proliferasi merupakan tahap terjadinya pertumbuhan sel-sel yang membentuk jaringan baru. Fase tersebut berlangsung mulai hari ke-4 hingga hari ke-21 pasca luka terjadi. Fase proliferasi memiliki tiga tahap penting dalam perbaikan luka yaitu fibroplasia, angiogenesis, dan epitelisasi. Fibroplasia merupakan tahapan pembentukan kembali jaringan dermis seperti proliferasi fibroblas, migrasi *fibrin clot*, sintesis kolagen dan produksi protein matriks serta berperan dalam pembentukan jaringan granulasi selama penyembuhan luka. (Lie and Kirsner, 2007). Pada fase proliferasi ini dipengaruhi oleh beberapa faktor pertumbuhan seperti FGF-2, PDGF, TGF- $\beta$  yang dihasilkan oleh makrofag dan platelet yang berfungsi dalam proses kemotaksis fibroblas dengan terjadinya aktivasi serta proliferasi dan migrasi fibroblas ke area luka (Adinda, 2017).

Fibroblas berasal dari sel mesenkimal yang belum terdiferensiasi, menghasilkan substansi dasar yaitu kolagen. Serat-serat kolagen yang disintesis akan membentuk keterpautan yang kuat bersama substansi lain dalam menutup luka. Proses akhir yang terjadi yaitu pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis) dengan melibatkan faktor pertumbuhan yaitu *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) yang dihasilkan oleh makrofag. Angiogenesis dan fibroplasia merupakan dua tahapan yang berjalan bersama, dimana proses angiogenesis dibutuhkan agar dapat mensuplai oksigen dengan baik pada tahapan proliferasi jaringan yang baru (fibroplasia), sehingga terjadi kecepatan dalam perbaikan luka. Pembentukan epitel yang baru (epitelisasi) melibatkan faktor pertumbuhan yaitu *Epidermal Growth Factor* (EGF) (Marg *et al.*, 2013)

## 2. Fase Maturasi (remodeling)

Fase maturasi merupakan tahap akhir proses penyembuhan luka. Pada fase ini jaringan baru yang terbentuk akan disusun sedemikian rupa menyerupai jaringan asal. Fase maturasi dimulai sejak hari ke-21 hingga sekitar satu tahun. Fase ini segera dimulai setelah kavitas luka terisi oleh jaringan granulasi dan proses re-epitelisasi selesai. Perubahan yang terjadi adalah adanya penurunan kepadatan sel dan vaskularisasi, penataan serat kolagen sepanjang luka serta meningkatkan kekuatan jaringan baru. Fase ini dapat terjadi selama bertahun-tahun (Shai *et al.*, 2007).

Kontraksi luka akan terjadi akibat aktivitas fibroblas yang mengandung komponen mikrofilamen aktin intraseluler (miofibrillas). Formasi kolagen terjadi fase ini, dimana kolagen awalnya tersusun tidak beraturan, sehingga membutuhkan *lysyl hydroxylase* untuk mengubah lisil menjadi hidroksil yang memicu adanya *cross-linking* antar kolagen. *Cross-linking* inilah yang akan menginisiasi terbentuknya *tensile strength* sehingga luka tidak mudah terkoyak kembali. *Tensile strength* akan terus meningkat perlahan sekitar 1-2 tahun (Gambar 2.6) dan tidak akan terbentuk sempurna seperti awal, namun hanya sekitar 80% dari normal (Robbin *et al.*, 2007).

### 2.3.3 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Penyembuhan Luka

#### A. Usia

Sirkulasi darah dan pengiriman oksigen pada luka, pembekuan, respon inflamasi dan fagositosis mudah rusak pada usia yang terlalu muda dan terlalu tua. Pada usia lanjut maka kecepatan pertumbuhan sel dan epitelisasi pada luka akan lebih lambat, sehingga kesembuhan luka juga akan lebih lambat (Noviastuty, 2016).

#### B. Nutrisi

Keseimbangan nutrisi didalam tubuh penting dalam proses kesembuhan luka. Kondisi kulit yang terpapar luka bakar, pembedahan, trauma, maupun infeksi yang parah akan



meningkatkan kebutuhan akan nutrisi sebagai salah satu pertahanan tubuh. Kurangnya nutrisi dapat meningkatkan resiko infeksi sehingga mengganggu kesembuhan luka. Kondisi obesitas juga dapat mempengaruhi kesembuhan luka karena menurunkan suplai darah sehingga pengiriman nutrisi ke seluruh tubuh juga terhambat. Jumlah protein, karbohidrat, lemak, mineral (Sarimin, 2009)

#### C. Oksigenasi

Penurunan oksigen arteri berhubungan dengan menurunnya kadar hemoglobin dalam darah sehingga akan mengganggu pengiriman oksigen ke jaringan dan mempengaruhi perbaikan jaringan (Sheridan, 2012)

#### D. Infeksi

Sumber terjadinya infeksi paling umum disebabkan oleh bakteri. Infeksi memperlambat penyembuhan dengan memperpanjang inflamasi dan memproduksi zat kimia yang dapat merusak jaringan (Noviastuty, 2016).

#### E. Benda Asing

Benda atau material asing termasuk jaringan nekrosis di area luka merupakan faktor pendukung pertumbuhan bakteri sekaligus penyebab lambatnya penyembuhan luka. Material asing dan bakteri bekerja sinergis dengan memperpanjang proses inflamasi sehingga penyembuhan luka akan lebih lambat. Luka

dengan jaringan nekrosis tidak akan membaik sampai semua jaringan nekrosis tersebut dihilangkan (Inayah, 2014).

## 2.4 Perawatan Luka Bakar

### A. Pembersihan Luka

Pembersihan luka dilakukan menggunakan hidroterapi dengan perendaman dengan air steril, larutan salin atau antiseptik seperti larutan yodium atau betadine yang encer (Kamolz *et al.*, 2012). Hidroterapi dilakukan selama 20-30 menit karena mencegah adanya reaksi menggigil atau stres metabolik (Marg *et al.*, 2013)

### B. Terapi Antibiotik

Penggunaan terapi topikal meningkatkan upaya dalam mengubah luka yang terbuka dan kotor menjadi luka yang tertutup dan bersih. Pemberian antibiotik diberikan untuk mengurangi jumlah bakteri agar populasi mikroba dapat dikendalikan oleh pertahanan tubuh secara alami. Obat topikal yang sering digunakan yaitu *silver sulfadiazine* (SSD) (Fuadi dkk., 2015)

### C. Debrimen

Debrimen merupakan pengangkatan jaringan yang sudah mengalami nekrosis dan bertujuan untuk menyokong pemulihan luka. Pemilihan metode debrimen harus berdasarkan karakteristik luka nekrosis pada luka. Menurut Suriadi (2007), terdapat beberapa cara debrimen yaitu debrimen mekanik, debrimen pembedahan, debrimen autoysis, debrimen enzimatis, dan debrimen biologis.

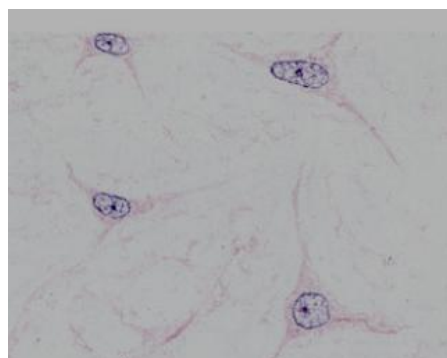
## 2.5 Fibroblas

### 2.5.1 Pengertian Fibroblas

Fibroblas merupakan sel yang paling umum ditemui pada jaringan ikat (Djuwita dkk., 2010). Fibroblas berasal dari sel mesenkim yang berkembang. Mesenkim adalah jaringan ikat yang berkembang dari jaringan embrional (Noviastuty, 2016). Fibroblas mensintesis matriks ekstraseluler dan kolagen yang berperan dalam penyembuhan luka. Produksi matriks ekstraseluler seperti glikosaminogen, serat elastin dan glikoprotein serta sintesis kolagen berfungsi untuk mempertahankan integritas struktur jaringan ikat. Jumlah fibroblas mencapai puncaknya sekitar satu minggu pasca trauma serta menjadi sel dominan pada daerah luka pada minggu pertama fase penyembuhan luka (Joseph and Kloth, 2010).

### 2.5.2 Morfologi Fibroblas

Fibroblas umumnya akan tersebar sepanjang berkas serat kolagen dan tampak seperti sel fusiform atau gelendong dengan bagian ujung berbentuk runcing (Zhang, 2013).



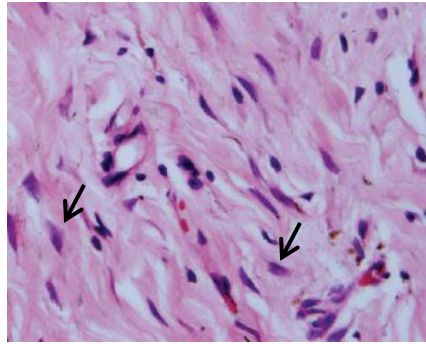
**Gambar 2.7.** Morfologi sel fibroblas dengan pewarnaan hemaktosilin eosin perbesaran 400x (Zhang, 2013)

Menurut Zhang (2013), fibroblas termasuk dalam sel dengan ukuran yang besar, datar, dan bercabang yang tampak seperti bentuk gelendong dilengkapi dengan inti serta sitoplasma yang tipis. Nukleus fibroblas memiliki bentuk yang oval atau memanjang, mempunyai satu atau dua nukleoli dan sejumlah kecil kromatin granular halus (Gambar 2.7 )

Menurut Granick and Gamelli (2007), fibroblas terdiri dari dua aktivitas yaitu aktif dan diam. Sel dalam aktivitas aktif disebut juga fibroblas (fibroblas muda) sedangkan sel yang tidak aktif disebut fibrosit (fibroblas tua). Fibroblas yang masih muda mempunyai sitoplasma yang bercabang dan banyak serta tidak teratur. Nukleus fibroblas muda berbentuk oval seperti telur berukuran besar, berwarna pucat dengan kromatin halus serta nukleolus yang menonjol (*euchromatic nuclei*). Fibroblas yang tua (fibrosit) berukuran lebih kecil daripada fibroblas yang muda. Memiliki bentuk seperti gelendong dengan nukleus yang memanjang, lebih gelap dan lebih kecil. Fibrosit sebagai bentuk inaktif fibroblas akan diinduksi oleh makrofag menjadi fibroblas pada penyembuhan luka

### 2.5.3 Histologi Umum Fibroblas

Fibroblas yang dilihat menggunakan mikroskop elektron akan tampak inti yang berbentuk lonjong dan panjang yang mengandung satu sampai dua nukleoli dan gumpalan kromatin halus yang berdekatan dengan selaput inti (Zhang, 2013)



**Gambar 2.8.** Gambaran Histopatologi sel fibroblas dengan perbesaran 400x (Ravikanth *et al.*, 2011)

Pada sayatan membujur, badan fibroblas akan terlihat seperti kumparan dalam deretan, sedangkan dengan sayatan melintang secara garis besar tampak sebagai bidang berbentuk bintang, gelap diantara gelondongan kolagen (**Gambar 2.8**). Fibroblas dapat dengan jelas dilihat pada sediaan hematoxilin eosin dengan membentuk suatu garis sejajar, sitoplasma berwarna kemerahan, serta kepadatannya dapat diukur dengan mikrometer *graticule* pada perbesaran 400x (Ravikanth *et al.*, 2011)

#### 2.5.4 Fungsi Fibroblas

Menurut Mescher (2016), fibroblas mensintesis beberapa komponen matriks ekstraseluler (kolagen, retikuler, elastin), glikoprotein multiadesif (laminin dan fibronektin), serta beberapa makromolekul anionik (glikosaminoglikan dan proteoglikan) yang dapat mendorong perlekatan sel pada substrat. Sitokin dan *growth factor* juga disekresikan oleh fibroblas untuk menstimulasi proliferasi sel fibroblas (Djuwita, dkk., 2010).

Proses penyembuhan luka melibatkan koordinasi beberapa tipe sel yaitu fibroblas, keratinosit, sel endotelial, platelet dan makrofag. Proses migrasi, infiltrasi, proliferasi dan diferensiasi sel-sel tersebut menyebabkan respon inflamasi yang berperan penting dalam pembentukan jaringan baru dan penutupan luka. Menurut Kanazawa *et al.*, (2010) proliferasi dan migrasi fibroblas memegang peranan yang sangat penting dalam pembentukan jaringan granulasi dan penutupan luka.

Fibroblas memperoleh fenotip khusus di bawah kontrol keratinosit yang disebut miofibroblas (Werner *et al.*, 2007). Miofibroblas merupakan fibroblas khusus yang memiliki kemiripan dengan sel otot polos dan berperan dalam penyambungan komponen ekstraseluler. Adanya penyambungan luka baru. Miofibroblas mempunyai sifat morfologis sebagai suatu fibroblas tetapi banyak mengandung mikrofilamen aktin dan miosin. Aktivitas sel-sel tersebut berperan dalam penutupan luka akibat cedera jaringan (Porter and Perry, 2007).

## **2.6 Fibroblast Growth Factor-2 (FGF-2)**

*Fibroblast Growth Factor* (FGF) merupakan faktor angiogenik yang dapat membentuk kompleks dengan heparin. Kompleks heparin dan FGF tersebut membentuk suatu struktur yang tahan terhadap panas dan protease sehingga akan meningkatkan efisiensi aktivasi sel menyusul terjadinya ikatan antara FGF dan reseptornya (Frisca *et al.*, 2009). *Fibroblast Growth Factor-2* (FGF-2) atau disebut juga *basic Fibroblast Growth Factor* (FGF-b)



bersumber dari makrofag, keratinosit, platelet, fibroblas, fibrosit dan sel endotelial yang berperan dalam fase fibroplasia dan angiogenesis. FGF-2 memiliki peran penting dalam penyembuhan luka dengan cara mengaktifkan makrofag lokal pada beberapa minggu pasca cedera. Efek yang dimunculkan dari FGF-2 yaitu berupa proliferasi sel fibroblas yang akan mempercepat penutupan luka (Ziegler and Pierce., 2012)

FGF-2 merupakan suatu kelompok polipeptida yang berikatan erat dengan heparin dan molekul *anionic* lain, sehingga mempunyai afinitas yang kuat pada membran basalis, diekskresikan dan di simpan dalam membran basalis yang kemudian akan menstimulasi secara cepat untuk merangsang pertumbuhan fibroblas dalam keadaan cedera lokal (Robbin *et al.*, 2007). Afinitas *Acid Fibroblast Growth Factor* (a-FGF) dalam pengikatan terhadap reseptor lebih tinggi dibandingkan dengan b-FGF. Berdasarkan fungsinya, a-FGF berperan dalam menjaga fisiologis tubuh termasuk diantaranya menjaga hemostatis tubuh seperti pertumbuhan pembuluh darah menjelang regenerasi jaringan dan penyembuhan luka serta terdapat pada organ otak dan retina. Peran FGF-2 yaitu menstimulasi dalam proliferasi dan migrasi faktor penyembuhan luka seperti sel fibroblas (Bliska *et al.*, 2013), sel endotel, sel epitel serta dapat ditemukan pada membran basal dan matriks ekstraseluler sub endotel pembuluh darah (Frisca dkk., 2009). FGF-2 juga dapat menstimulasi sintesis kolagen, epitelisasi, sintesis fibronektin dan proteoglikan yang akan membentuk *extracellular matrix*.



## 2.7 Kolagen Hidrolisat Ikan

Kolagen hidrolisat atau gelatin merupakan protein hasil hidrolisis kolagen bersumber dari tulang, kulit, maupun jaringan pada hewan sapi, babi, maupun ikan. Sifat kolagen kolagen hidrolisat yaitu padat, terang, kekuningan hingga jernih dan tidak berbau (Agustin, 2013). Menurut Sibilla *et al.*, (2015) karakteristik kolagen hidrolisat memiliki berat molekul yang rendah sehingga mampu berpenetrasi ke dalam jaringan dengan dengan lebih baik. Beberapa penelitian menunjukkan berat molekul kolagen hidrolisat seperti pada ikan Nila mencapai 0,8-3 kDa (Sibilla *et al.*, 2015), 37 kDa pada ikan Hiu (Jeevitan *et al.*, 2015), serta 45-100 kDa pada ikan Tuna (Panjaitan, 2016).

Kolagen hidrolisat atau gelatin merupakan polimer yang tersusun dari satuan terulang asam amino glisin-prolin-hidroksiprolin yang saling terkait melalui ikatan peptida. Menurut penelitian Maryani dkk. (2010), asam amino yang terkandung di dalam kolagen hidrolisat yaitu glisin (26%), prolin (16%), hidroksiprolin (14%). Glisin yang relatif tinggi pada kolagen dapat menjaga kondisi kulit agar tetap lembab pada luka bakar (Aisyah dkk., 2017).

Berdasarkan pendapat Ohara *et al.* (2010), hidrolisat kolagen berperan dalam penyembuhan luka dengan adanya aktivitas kemotaksis dalam menstimulasi sel imunitas dan pembentukan faktor pertumbuhan yaitu FGF dan VEGF serta dalam proliferasi fibroblas. Pada penelitian lainnya, Zhang *et al.* (2015) membuktikan bahwa hidrolisat kolagen mampu berperan dalam penyembuhan luka kutaneus dengan adanya respon angiogenesis yang lebih cepat pada tikus.

## 2.8 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Menurut Mostert (2009), klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut

Kingdom : Animalia  
 Filum : Chordata  
 Subfilum : Vertebrata  
 Kelas : Mamalia  
 Ordo : Rodentia  
 Famili : Muridae  
 Genus : Rattus  
 Spesies : *Rattus norvegicus*  
 Galur/Strain : Wistar



**Gambar 2.9** Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar (Johson, 2012)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan model yang sering digunakan dalam penelitian ilmiah salah satunya yaitu model luka bakar.

Pada penelitian Zhu, *et al.* (2018), tikus putih digunakan dengan induksi luka bakar derajat II yang diterapi menggunakan *Nitric oxide*. Penelitian tersebut mengamati proses penyembuhan luka yang dilihat melalui regenerasi folikel rambut, deposit kolagen, angiogenesis, serta infiltrasi sel radang pada fase

inflamasi. Hasil yang dilaporkan, bahwa terapi dapat meningkatkan prokolagen dan proliferasi fibroblas sehingga mempercepat kesembuhan luka pada kulit tikus dalam waktu 10 hari setelah induksi.

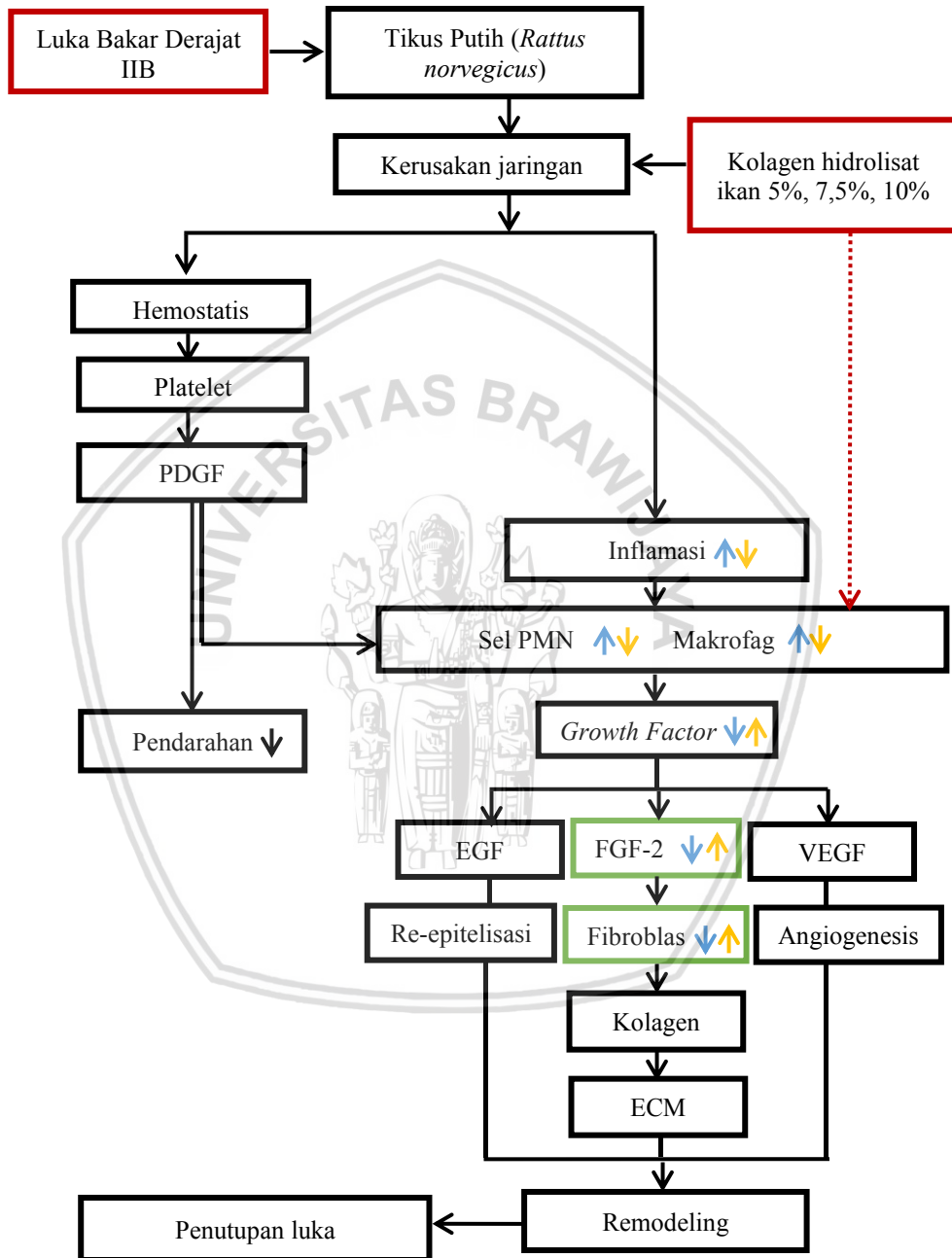
Pada penelitian Andrade, *et al.* (2017), tikus putih digunakan sebagai hewan model luka bakar derajat III, dimana penelitian tersebut menguji efektifitas metode induksi dalam pembuatan luka bakar derajat III. Penggunaan besi solder yang dilakukan pada kulit bagian punggung tikus dengan suhu diatas 150°C dengan waktu induksi 5 detik dilaporkan dapat menjadi metode paling efektif dalam pembuatan luka bakar derajat III.

Penelitian lainnya yaitu pada Khazaeli, *et al.* (2014), menggunakan tikus putih dengan induksi luka bakar derajat II dalam melihat efek pemberian gel *minoxidil* sebagai antifibrosis. Hasil yang dilaporkan negatif, dimana pemberian gel *minoxidil* tidak mampu memunculkan reaksi antifibrosis pada kulit tikus setelah maksimal 21 hari.



### BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

#### 3.1 Kerangka Konsep



#### Keterangan

□ : Variabel bebas

↕ : Efek terapi

↕ : Stimulasi

□ : Variabel terikat

↕ : Efek luka bakar

↕ : Pengaruh terapi

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) diberikan perlakuan luka bakar derajat IIB yang akan mengalami kerusakan jaringan kulit. Kerusakan jaringan yang terjadi meliputi seluruh lapisan epidermis dan 1/2 sampai 7/8 bagian lapisan dermis. Kerusakan lapisan dermis berupa rusaknya sebagian apendisis dermis yaitu folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar sebacea disertai dengan adanya kerusakan pembuluh darah.

Pasca cedera, secara alami tubuh akan melakukan proses perbaikan luka diawali dengan fase hemostatis. Fase hemostatis terjadi secara langsung setelah luka terpajan sumber panas. Pada fase ini terjadi kontak antara trombosit dengan kolagen dari jaringan yang terpapar oleh darah menyebabkan pelepasan faktor pembekuan dan deposisi fibrin ke lokasi luka. Platelet akan melepaskan faktor pembekuan dan *growth factor* penting yaitu *Platelet Derivat Growth Factor* (PDGF) yang membantu dalam menghentikan pendarahan.

Pada fase inflamasi terjadi infiltrasi sel radang seperti sel Polimorfonuklear (PMN) dan Mononuklear (MN). Sel PMN yang dihasilkan yaitu seperti neutrofil yang merupakan sel radang pertama yang muncul pada luka setelah kurang lebih 24 jam setelah cedera, sedangkan sel MN menghasilkan monosit yang nantinya akan berdiferensiasi didalam jaringan menjadi makrofag. Peningkatan sel radang seperti neutrofil maupun makrofag menjadi pertanda perbaikan luka pada tahap inflamasi. Makrofag muncul akibat reaksi kemotaksis PDGF dan bersumber dari monosit, dimana sel monosit berasal akibat permeabilitas pembuluh darah yang meningkat sehingga akan mudah keluar dan menuju luka serta dibentuk menjadi makrofag dalam waktu 48 jam. Makrofag akan menstimulasi beberapa *growth*

*factor* seperti *Fibroblast Growth Factor* (FGF), *Epidermal Growth Factor* (EGF), dan *Vascular Endotel Growth Factor* (VEGF).

Mekanisme kerja FGF-2 yaitu dengan cara menstimulasi proliferasi dan migrasi sel fibroblas ke area luka. FGF-2 diproduksi oleh makrofag dan platelet pada fase inflamasi yaitu pasca luka hingga hari ke-3, selanjutnya pada fase proliferasi atau hari ke-10 pasca luka FGF-2 dihasilkan oleh fibroblas. Pada puncak fase proliferasi tersebut, fibroblas akan bersamaan mensintesis kolagen, dimana kolagen merupakan protein penting dalam pembentukan jaringan granulasi serta menyusun formasi *Extracellular Matrix* (ECM). EGF akan menstimulasi proses pembentukan epitel yang baru (re-epitelisasi) pada luka dan VEGF akan membantu dalam perbaikan sel endotel yang baru (angiogenesis) yang kemudian ketiganya bekerja secara sinergis dalam fase remodeling dan terjadi penutupan luka.

Pemberian salep kolagen hidrolisat ikan bertujuan dalam penyembuhan luka bakar derajat IIB. Menurut penelitian Ohara *et al.* (2010), bahwa kolagen hidrolisat ikan memunculkan reaksi kemotaksis terhadap sel imunitas seperti makrofag yang akan menstimulasi faktor pertumbuhan seperti FGF-2 dan VEGF sehingga akan terbentuk biomaterial pembentuk fibroblas, menyusun formasi kolagen dan mendorong serta menciptakan perkembangan jaringan yang baru. Berdasarkan reaksi yang bekerja secara sinergis tersebut diharapkan mampu mempercepat dalam proses perbaikan jaringan yang rusak setelah terjadinya luka bakar derajat IIB.



### 3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Salep kolagen hidrolisat ikan dapat meningkatkan ekspresi FGF-2 pada tikus (*Rattus novergicus*) pasca luka bakar derajat IIB.
2. Salep kolagen hidrolisat ikan dapat meningkatkan jumlah sel fibroblas melalui gambaran histopatologi pasca luka bakar derajat IIB.





## BAB 4 METODE PENELITIAN

### 4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2018 hingga April 2018 di Laboratorium Epidemiologi Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Laboratorium FAAL Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Laboratorium Patologi Anatomi Kessima Medika Malang, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang

### 4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan sehat. Estiasi besar sampel dihitung berdasarkan rumus (Kusriningrum, 2008)

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

$$(4-1)(n-1) \geq 15$$

$$3n-3 \geq 18$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan tersebut, maka dengan adanya 4 kelompok perlakuan diperlukan jumlah ulangan kurang lebih 6 kali dalam setiap kelompok, sehingga dibutuhkan 24 ekor hewan coba.

### 4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan acak lengkap digunakan apabila ragam satuan percobaan yang

digunakan homogen atau seragam. Hewan model dibagi menjadi empat kelompok masing-masing enam ulangan. K(+) merupakan kelompok kontrol tikus yang diberi perlakuan luka bakar derajat IIB dan diterapi menggunakan obat topikal *Silver sulfadiazine*. Tikus terapi dibagi menjadi tiga perlakuan yaitu tikus dengan induksi luka bakar IIB dan terapi salep kolagen hidrolisat ikan 5% (P1), tikus induksi luka bakar IIB dan terapi kolagen hidrolisat ikan 7,5% (P2), tikus induksi luka bakar IIB dan terapi kolagen hidrolisat ikan 10% (P3). Terapi diberikan dua kali sehari selama 10 hari dengan dosis pemberian salep 0,5 g.

**Tabel 4.1 Rancangan penelitian**

Kelompok Perlakuan	Perlakuan
Kontrol (+)	Tikus diberi luka bakar derajat IIB dan diterapi <i>Silver sulfadiazine</i> 0,5 gram pemberian dua kali sehari selama 10 hari
P1	Tikus diberi perlakuan luka bakar derajat IIB + diterapi salep kolagen hidrolisat ikan konsentrasi 5% pemberian dua kali sehari selama 10 hari sebanyak 0,5 gram
P2	Tikus diberi perlakuan luka bakar derajat IIB + diterapi salep kolagen hidrolisat ikan konsentrasi 7,5% pemberian dua kali sehari selama 10 hari sebanyak 0,5 gram

P3	Tikus diberi perlakuan luka bakar derajat IIB + diterapi salep kolagen hidrolisat ikan konsentrasi 10% pemberian dua kali sehari selama 10 hari sebanyak 0,5 gram
----	--

#### 4.4 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

Variabel bebas : kolagen hidrolisat ikan, luka bakar derajat IIB

Variabel tergantung : Ekspresi FGF-2 dan jumlah fibroblas

Variabel kendali : Berat badan tikus, umur tikus, jenis kelamin tikus, pakan dan minum yang sama dan lingkungan.

#### 4.5 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kandang tikus, *underpad*, pembatas kandang, *waterbath*, objek gelas, cawan petri, sentrifus, penangas air, timbangan digital, termometer raksa, plat besi ukuran 2x4 cm<sup>2</sup>, pensil, mikropipet, mikrotube, oven, *gloove*, masker, pot salep 60g, kassa, tisu, spatula, plastik bening, gelas ukur, cawan porselen, lumpang, spuit 1cc dan 3cc, seperangkat alat bedah, papan bedah, pot organ, *cover glass*, blender, Mikroskop (BX51<sup>®</sup>)

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain tikus putih (*Rattus norvegicus*), pakan minum tikus, hidrolisat kolagen ikan (PEPTIPLUS<sup>®</sup> XF, *normal saline* (NS) 0,9%, ketamin, *xylazine*, vaselin album, *buffer formalin* 10%, *aquadest proinjection*, aquades, alkohol 70%, ethanol 70%, 80%, 90%, 95%, PBS,

larutan xylol, antibodi primer FGF-2, antibodi sekunder, *Diamano benzidine*, pewarna *hematoxilin-eosin*, asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) 9%, dan *Silver sulfadiazine*.

*Silver sulfadiazine* merupakan obat perbandingan yang digunakan untuk terapi pada kelompok kontrol positif. Obat yang bersifat sebagai antibakteri tersebut memiliki kandungan *Silver sulfadiazine* 1% yang menjadi *gold standart* pengobatan topikal pada luka bakar derajat II dan derajat III di pasaran. Kelebihan *Silver sulfadiazine* yaitu antibakteri dengan daya tembus yang efektif terhadap semua bakteri, tidak menimbulkan resistensi serta aman digunakan (Nugraha dan Muhartono, 2011). Menurut Fuadi dkk. (2015) *Silver sulfadiazine* kurang dapat memberi kelembapan pada luka dalam mendukung proses kesembuhan luka serta tidak dapat digunakan dalam jangka waktu yang lama, selain itu dapat bersifat toksik.

#### 4.6 Tahapan Penelitian

1. Persiapan hewan coba
2. Pembuatan kolagen hidrolisat ikan
3. Pembuatan salep kolagen hidrolisat ikan
4. Perlakuan luka bakar derajat IIB pada hewan coba
5. Terapi salep kolagen hidrolisat ikan
6. Pengambilan dan pembuatan preparat kulit tikus putih
7. Ekspresi FGF-2 dengan IHK (*Imunohistokimia*)
8. Perhitungan jumlah sel fibroblas dengan histopatologi (pewarnaan HE)
9. Analisis data

## 4.7 Prosedur Kerja

### 4.7.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan diadaptasi selama tujuh hari dan diberi pakan *pellet* serta jagung. Kandang yang digunakan yaitu kandang panggung dengan ukuran 52,75cm<sup>2</sup> x 40,5cm<sup>2</sup> dengan bahan plastik yang diberi alas *underpad*. Kandang terbagi menjadi empat bagian dan setiap bagian diisi oleh satu ekor tikus. Kandang dilengkapi dengan cawan petri sebagai tempat pakan, botol air minum, alas panggung, dan kawat penutup.

### 4.7.2 Perlakuan luka bakar derajat IIB

Langkah-langkah pembuatan luka bakar derajat IIB antara lain sebagai berikut dan secara terperinci dapat dilihat pada **Lampiran 6**

1. Daerah yang akan dibuat luka ditentukan terlebih dahulu yaitu bagian dorsal jarak 2 cm dari telinga
2. Area dicukur dan dibersihkan dari rambut pada area yang akan dibuat luka bakar, yang sebelumnya diukur dan ditandai menggunakan pensil
3. Perlak alas dipasang di bawah tubuh tikus yang akan dibuat luka bakar
4. Cuci tangan dan memakai sarung tangan
5. Area kulit yang akan dibuat luka bakar didesinfeksi dengan alkohol 70%, ditunggu sampai kering
6. Anastesi menggunakan ketamin dosis 75-90 mg/kgBB dengan konsentrasi 100 mg/mL dan xylazine dosis 5-10 mg/kgBB konsentrasi 20mg/mL dicampur dalam satu spuit secara subkutan. Metode induksi luka



bakar yang digunakan merupakan modifikasi dari penelitian Akhoondinasab *et al.* (2014) yaitu plat besi ukuran 2x4 cm<sup>2</sup> dengan ketebalan 2 mm dipanaskan dalam air mendidih suhu 100°C selama 15 menit dan ditempelkan pada bagian punggung tikus. Plat besi ditempelkan menggunakan korentang pada punggung tikus selama 15 detik tanpa ada tekanan, besi diangkat kemudian dikompres dengan kasa yang telah dicelupkan ke dalam larutan NS untuk menghentikan perluasan luka di jaringan sekitar. *Normal Saline* (NS 0,9%) merupakan cairan isotonik yang digunakan untuk membantu menjaga keseimbangan cairan tubuh.

#### 4.7.2 Pembuatan Hidrolisat Kolagen Ikan

Kolagen hidrolisat ikan didapatkan dalam produk jadi berbentuk serbuk dengan berat 500g setiap kemasan. Produk tersebut memiliki merk dagang PEPTIPLUS® XF yang telah mendapat sertifikat uji kandungan (Lampiran 2).

Prosedur pembuatan kolagen hidrolisat dalam penelitian Agustin (2015), dilakukan dengan cara memotong bahan ikan kecil-kecil dengan ukuran 1cm<sup>2</sup>, selanjutnya dicuci bersih dalam air mengalir. Hasil potongan bahan direndam didalam asam asetat konsentrasi 9% selama 48 jam. Selanjutnya bahan yang sudah direndam dicuci bersih sebanyak 3 kali dengan air hingga mencapai pH netral. Bahan ikan tersebut diekstraksi dengan cara dimasukkan kedalam *waterbath* dengan suhu 55°C selama 5 jam dan selanjutnya dilakukan pendinginan dengan merendam hasil bahan ekstraksi ikan dengan aquadest perbandingan 1:3. Proses selanjutnya yaitu penyaringan gelatin ikan dengan menggunakan kertas saring dan dikeringkan dalam oven

suhu 60°C selama 48 jam. Kolagen hidrolisat atau gelatin yang diperoleh dihaluskan dengan menggunakan blender hingga diperoleh tepung gelatin.

#### 4.7.3 Pembuatan Salep Kolagen Hidrolisat Ikan

Salep dibuat dengan bahan dasar hidrokarbon yaitu vaselin album. Pemilihan bahan dasar vaselin album yaitu dapat mempertahankan kelembapan dan menghambat pengeluaran cairan serta memiliki waktu kontak yang lebih lama pada kulit (Muthalib dkk., 2013).

Proses pembuatan salep diawali dengan menimbang semua bahan yang diperlukan sesuai formula perhitungan salep kolagen hidrolisat ikan (Lampiran 5). Vaselin album dimasukkan ke dalam gelas ukur lalu dileburkan diatas *waterbath* dengan suhu 50°C selama kurang lebih 15 menit. Setelah meleleh, hasil leburan dimasukkan dalam cawan porselen dan digerus hingga homogen dan dingin. Serbuk kolagen hidrolisat ikan ditambahkan sedikit demi sedikit sambil digerus hingga homogen dan menjadi sediaan setengah padat. Sediaan ditimbang seberat 60 g dan dimasukkan dalam pot salep. Salep hidrolisat kolagen ikan dibuat dengan memformulasikan serbuk hidrolisat kolagen ikan (PEPTIPLUS® XF) dengan bahan pembawa vaselin album konsentrasi 5%, 7,5%, 10% yang dibuat sebanyak 60 gram (Tabel 4.2)

**Tabel 4.2** Formulasi salep kolagen hidrolisat ikan

No	Nama bahan	5%	7,5%	10%
1	Kolagen hidrolisat ikan (g)	3	4,5	6
2	Vaselin album (g)	add 60	add 60	add 60

#### 4.7.4 Terapi Salep Kolagen Hidrolisat Ikan

Pemberian salep kolagen hidrolisat ikan pada tikus dengan luka bakar derajat IIB sebanyak 0,5 g yang diberikan dua sekali sehari (kelompok terapi) selama 10 hari (Lampiran 14).

#### 4.7.5 Euthanasi dan Isolasi Kulit

Tikus putih jantan dieutanasi pada hari ke-18 dengan cara dislokasio cervicalis, kemudian diletakkan di atas papan bedah dan dalam posisi dorsal. Daerah kulit yang akan diambil dibersihkan dulu dari rambut yang mulai tumbuh kembali dengan pencukur dan sampel kulit diangkat menggunakan *scalpel blade* dengan luas  $\pm 2 \times 4$  cm dan sedikit mengikutkan jaringan normal di sekitarnya. Sampel kulit dicuci menggunakan NS kemudian dimasukkan dalam larutan *buffer formalin* 10% dan disimpan dalam suhu ruang (Lampiran 7)

#### 4.7.6 Perhitungan Jumlah Fibroblas

##### A. Pembuatan preparat histopatologi kulit dan Pewarnaan HE

Tahapan pembuatan histopatologi yaitu terdiri dari fiksasi, dehidrasi, dan infiltrasi, penjernihan (*clearing*) infiltrasi parafin, *embedding*, *sectioning*. Adapun secara terperinci tahapan-tahapan pembuatan histopatologi sebagai berikut dan dapat dilihat pada **Lampiran 9**

### 1. Fiksasi

Fiksasi bertujuan untuk mengawetkan dan mengeraskan jaringan. Proses fiksasi dilakukan setelah jaringan kulit yang sudah dikoleksi, dimasukkan kedalam larutan *paraformaldehid* (PFA).

### 2. Dehidrasi

Dehidrasi merupakan proses untuk mengeluarkan air dari dalam jaringan yang telah difiksasi. Larutan yang digunakan yaitu etanol secara bertingkat dari konsentrasi 70% sampai dengan konsentrasi absolut

### 3. Penjernihan

Penjernihan merupakan proses yang bertujuan untuk menggantikan tempat etanol dalam jaringan dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan parafin. Larutan yang digunakan adalah xylol. Prinsip kerjanya yaitu jaringan dipindahkan dari etanol absolut ke larutan penjernih (xylol). Penjernihan dilakukan dalam xylol I (1 jam), xylol II (1 jam), xylol III (30 menit pada suhu kamar dan 30 menit pada inkubator)

### 4. *Embedding*

*Embedding* merupakan proses yang bertujuan untuk mengeluarkan *clearing agent* dari jaringan dan diganti dengan parafin. Proses *embedding* dilakukan dengan cara jaringan kulit dimasukkan dalam parafin cair yang telah disiapkan di dalam suatu wadah dan dibiarkan hingga memadat.

#### 5. Pemotongan (*Sectioning*) penempelan pada gelas objek

Proses pemotongan dimulai dengan memotong jaringan kulit dengan blok parafin dengan menggunakan mikrotom setebal 4 mikron dengan potongan melintang. Irisan jaringan kulit selanjutnya diletakkan pada *poly-L-lysine slide*. Potongan tersebut dikeringkan dengan meletakkan diatas hot palte suhu 38-40°C hingga kering dan preparat disimpan dalam inkubator pada temperatur yang sama yaitu 38-40°C. Preparat siap diwarnai dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin.

Pewarnaan Hematoksin-Eosin bertujuan untuk memberikan warna biru pada inti sel (basofilik) serta eosin yang merupakan *counterstaining* hematoksin yang berfungsi untuk memulas sitoplasma sel serta jaringan penyambung dengan memberikan warna merah muda. Proses pewarnaan diawali dengan memasukkan preparat xylol 1, 2, dan 3 selama masing-masing 5 menit, kemudian dimasukkan pada ethanol bertingkat dimulai dari ethanol absolut yaitu 95%, 90%, 80%, dan 70% secara berurutan masing-masing selama 5 menit. Sediaan kemudian dicuci menggunakan air mengalir selama 15 menit dan dilanjutkan dengan aquades selama 5 menit. Sediaan tersebut kemudian diwarnai dengan Hematoksin selama 10 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 30 menit dan air aquades selama 5 menit. Setelah itu sediaan diwarnai dengan pewarna eosin selama 5 menit dan dicuci di bawah air mengalir selama 10 menit dan aquades selama 5 menit. Setelah sediaan terwarnai, dimasukkan pada ethanol 70%, 80%, 90%,

dan 95% masing-masing selama beberapa detik dilanjutkan dengan etanol 100% I, II, dan III masing-masing 2 menit. Proses terakhir yaitu dilakukan *clearing* dengan xylol 1, 11, 111 selama 3 menit dan ditutup dengan *cover* gelas.

## **B. Tahap Perhitungan Jumlah Fibroblas**

Jumlah sel fibroblas diamati menggunakan mikroskop BX51<sup>®</sup> dengan perbesaran 400x. Karakterisasi sel fibroblas yaitu berbentuk fusiform dengan banyak cabang memanjang dan berujung lancip, inti tampak berwarna ungu dan memiliki sitoplasma dengan warna merah. Perhitungan jumlah fibroblas yaitu pada lima lapang pandang yang berbeda dalam setiap preparat dengan bantuan *software Imageraster* dan kemudian dirata-rata hasilnya untuk dianalisis pada aplikasi *SPSS statistics 21* (Lampiran 12)

### **4.7.7 Ekspresi FGF-2 dengan Imunohistokimia (IHK)**

Prosedur pewarnaan imunohistokimia diawali dengan perendaman preparat xylol 1, xylol 2, dan etanol bertingkat (70%, 80%, 90%, 100%). Slide preparat kemudian dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 1x15 menit selanjutnya ditetesi dengan 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> selama 20 menit. Preparat dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali. Selanjutnya diberikan antibodi primer FGF-2 dan diinkubasi pada suhu kamar selama semalam. Antibodi sekunder *rabbit anti rat igG* berlabel biotin diinkubasi dengan selama satu jam dengan suhu ruang. Pencucian kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit 3kali. Preparat kemudian ditetesi dengan *Strep Avidin Horse Radish Peroxidase (SA-HRP)*

selama 40 menit. Kemudian dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali, selanjutnya ditetesi dengan *Diamano benzidine* (DAB) selama 10 menit dan dicuci kembali menggunakan PBS pH 7,4 selama 5 menit 3 kali. Selanjutnya *counterstaining* menggunakan *Mayer Hematoxylen* selama 10 menit dicuci dengan air mengalir, dibilas dengan aquades dan dikeringkan. Proses terakhir yaitu slide preparat dilakukan *mounting* dan ditutup dengan cover gelas (Lampiran 10)

Ekspresi FGF-2 diamati menggunakan mikroskop BX51<sup>®</sup> dengan perbesaran 400x dalam lima bidang pandang setiap preparat. Ekspresi FGF-2 dapat diamati pada bagian dermis dengan warna kecoklatan. Setelah itu hasil pengamatan didokumentasi dari mikroskop kemudian diproses menggunakan *software imunoratio* untuk mengamati ekspresi FGF-2 yang ditandai dengan peningkatan rata-rata persentasi luas daerah yang terwarnai.

#### **4.7.8 Analisa Data**

Analisa data dalam penelitian ini menggunakan analisa kuantitatif. Analisa kuantitatif digunakan untuk menganalisa data ekspresi FGF-2 menggunakan bantuan *software immunoratio* dan menghitung jumlah sel fibroblas dengan bantuan *software imageraster* serta aplikasi *Microsoft excel* dengan analisa statistik ragam *One Way ANOVA* pada *SPSS Statistics 21* dan jika hasil menunjukkan perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji BNJ (Beda Nyata Jujur) dengan tingkat kepercayaan 95% (Kusiningrum, 2008).





## BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

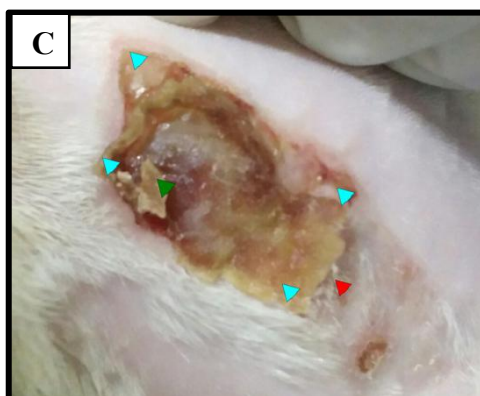
Tikus putih (*Ratus norvegicus*) pasca induksi luka bakar derajat IIB menunjukkan ciri-ciri munculnya warna putih kepucatan hingga menjadi kemerahan, serta diikuti dengan terkelupasnya lapisan kulit. Luka selanjutnya diterapi menggunakan salep kolagen hidrolisat ikan sebanyak 0,5g dua kali sehari selama sepuluh hari. Gambaran makroskopik perkembangan kesembuhan luka bakar derajat IIB yang diterapi salep kolagen hidrolisat ikan dapat dilihat pada (Gambar 5.1)



**Gambar 5.1 A** Gambaran makroskopis perkembangan kesembuhan jaringan kulit tikus pada hari ke-10 pasca induksi luka bakar derajat IIB kelompok kontrol positif (▶ area yang masih mengalami luka), (▶ pertumbuhan rambut area luka)



**Gambar 5.1 B** Gambaran makroskopis perkembangan kesembuhan jaringan kulit tikus pada hari ke-10 pasca induksi luka bakar derajat IIB kelompok terapi salep kolagen hidrolisat ikan 5% (▶ area yang masih mengalami luka), (▶ adanya keropeng)



**Gambar 5.1 C** Gambaran makroskopis perkembangan kesembuhan jaringan kulit tikus pada hari ke-10 pasca induksi luka bakar derajat IIB kelompok terapi salep kolagen hidrolisat ikan 7,5% ( ▶ area yang masih mengalami luka), ( ▶ adanya keropeng), ( ▶ pertumbuhan rambut di area luka)



**Gambar 5.1 D** Gambaran makroskopis perkembangan kesembuhan jaringan kulit tikus pada hari ke-10 pasca induksi luka bakar derajat IIB kelompok terapi salep kolagen hidrolisat ikan 10% ( ▶ area yang masih mengalami luka ), ( ▶ pertumbuhan rambut di area luka)

Berdasarkan hasil gambaran makroskopik kesembuhan luka yang diambil pada hari ke-10 pasca induksi luka bakar derajat IIB menunjukkan bahwa kelompok K<sup>+</sup> mengalami penyembuhan yang paling baik dibandingkan dengan kelompok perlakuan. K<sup>+</sup> yang diterapi *Silver sulfadiazine* menunjukkan luas perlukaan yang semakin mengecil, mengering dan keropeng terlepas, serta adanya pertumbuhan rambut di area luka yang menandakan adanya perbaikan folikel rambut pada lapisan dermis (Gambar 5.1A). Pemberian *Silver sulfadiazine* berpengaruh lebih baik yang dapat membantu mengurangi adanya infeksi dan

menginduksi sel-sel imunitas sehingga mempercepat proses penyembuhan luka. Pada penelitian Singh *et al.* (2011) penggunaan *dressing* kolagen dengan *Silver sulfadiazine* menunjukkan hasil tidak berbeda makna antar kedua terapi, yaitu dapat mempercepat penyembuhan luka bakar kronis dengan mengurangi edema, kekurangan cairan di area luka, dan memfasilitasi dalam migrasi fibroblas serta pembentukan jaringan granulasi. Namun pada penelitian ini menunjukkan hasil berbeda signifikan antar kedua terapi yang dilihat pada ekspresi FGF-2 dan jumlah fibroblas. Berdasarkan hasil tersebut diduga bahwa pada luka bakar terjadi infeksi sekunder dimana terapi salep kolagen hidrolisat ikan belum mampu mengurangi resiko infeksi tersebut, karena tidak memiliki kandungan antibiotik didalamnya.

Kelompok K<sup>+</sup> lebih baik dibandingkan dengan kelompok P1 yang menunjukkan luas perlukaan pada kulit belum berkurang atau mengecil pasca induksi hal ini artinya bahwa perkembangan lapisan kulit terutama pembentukan epidermis masih sangat sedikit, ditandai dengan warna merah di sekitar luka yang menandakan reepitelisasi. Sebagian keropeng belum terlepas dari kulit serta belum adanya pertumbuhan rambut di area luka yang menunjukkan belum sempurnanya perkembangan folikel rambut pada lapisan dermis (Gambar 5.1 B).

Kelompok P2 pasca induksi luka bakar derajat IIB diterapi menggunakan salep kolagen hidrolisat ikan 7,5% menunjukkan bahwa luas perlukaan pada kulit sudah mulai mengecil yaitu setengah dari luka pasca induksi pertama (Gambar 5.1 C). Kelompok P2 menunjukkan kesembuhan luka yang lebih baik dibandingkan dengan P1 namun kurang baik dibandingkan dengan K<sup>+</sup>. Pada P2 pertumbuhan

rambut sudah hampir setengah luas permukaan luka dan setengah area luka lainnya termasuk dalam zona statis dimana mengalami kerusakan pembuluh darah sehingga menghambat transport oksigen, dan terjadi peradangan lokal sehingga waktu penyembuhan yang lebih lama. Hal ini sesuai dengan pendapat Kamolz *et al.* (2010) bahwa zona statis meliputi kerusakan pembuluh darah dan trombosit menyebabkan terganggunya vaskularisasi yang akan memperlambat kesembuhan luka dengan tahap akhir berupa zona nekrosis.

Kelompok P3 menunjukkan kesembuhan luka yang lebih baik dibandingkan dengan P1 dan P2 namun masih kurang baik dibandingkan dengan K+. Pada kelompok P3, keropeng pada area luka sudah terlepas dan permukaan area luka sudah mulai mengecil atau berkurang, hal ini ditunjukkan dengan adanya kondisi luka yang sudah menutup sempurna dengan adanya pertumbuhan rambut (Gambar 5.1 D). Hal ini sesuai dengan pendapat Latifa (2017) bahwa konsentrasi 10% adalah konsentrasi terbaik yang mampu mempercepat penutupan luka. Area luka yang sudah menutup menandakan bahwa proses pembentukan epitel sudah membaik, selain itu adanya pertumbuhan rambut mengindikasikan terjadi perbaikan komponen kulit terutama folikel rambut pada lapisan dermis. Area luka kesembuhan yang tidak merata menunjukkan perbedaan zona keparahan luka bakar pada satu area yang diinduksi. Area luka yang menutup sempurna termasuk dalam zona hiperemi dimana terjadi vasodilatasi dan tidak melibatkan reaksi seluler sehingga dalam penyembuhannya terjadi lebih cepat (Kamolz *et al.*, 2010). Area yang masih belum terjadi reepitelisasi dengan baik termasuk zona statis

dimana terjadi kerusakan hingga pembuluh darah sehingga membutuhkan pemulihan yang lebih lama dibandingkan dengan zona hiperemi.

### **5.1 Efek Pemberian Salep Kolagen Hidrolisat Ikan pada Tikus Pasca Luka Bakar Derajat IIB terhadap Ekspresi *Fibroblast Growth Factor 2* (FGF-2)**

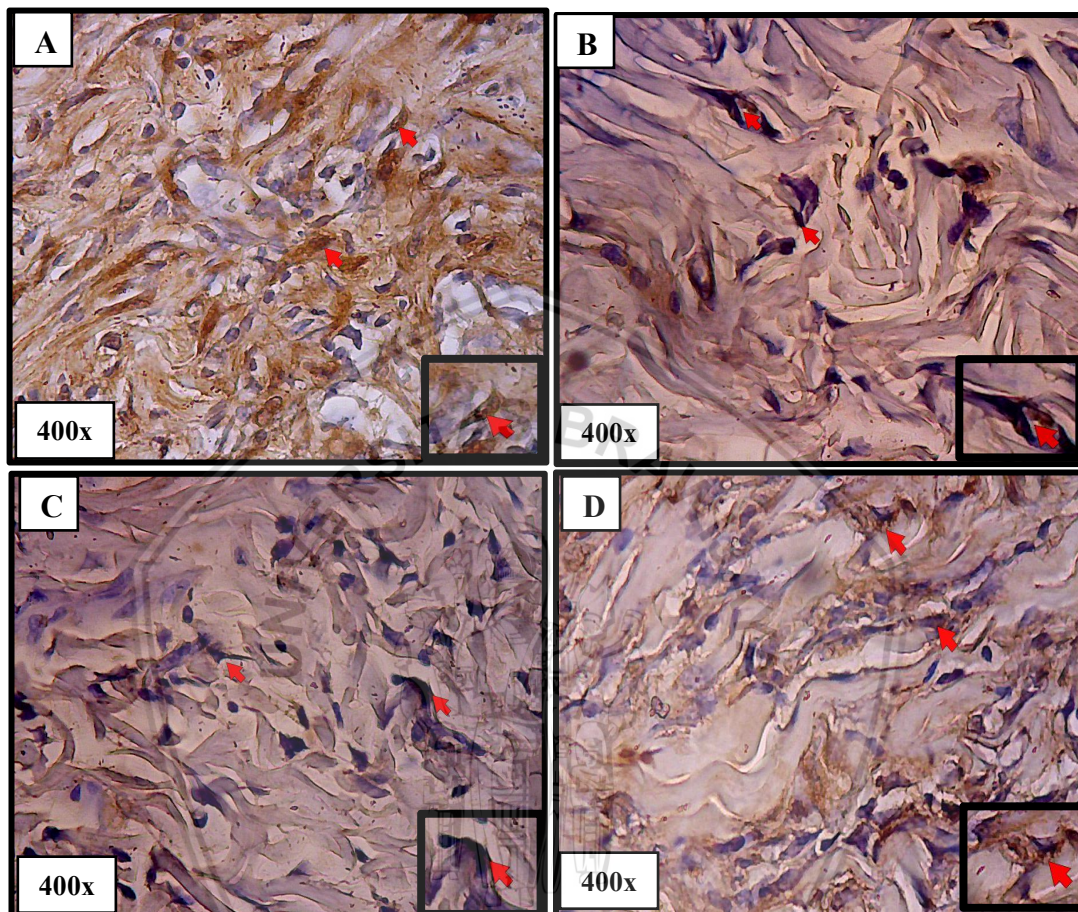
*Fibroblast Growth Factor 2* (FGF-2) merupakan faktor pertumbuhan yang berperan dalam proses proliferasi sel fibroblas serta angiogenesis dalam penyembuhan luka. Menurut Akita *et al.* (2013) faktor pertumbuhan FGF-2 diproduksi oleh platelet dan makrofag untuk menarik leukosit pada fase inflamasi, dan diproduksi oleh sel fibroblas pada fase proliferasi dan berlanjut pada sintesis kolagen

Ekspresi FGF-2 ditunjukkan dengan warna cokelat yang terekspresi pada sel fibroblas (tanda panah merah) yang berada pada bagian dermis kulit (Gambar 5.2). Warna coklat muncul karena ikatan antara antigen pada jaringan dan antibodi yang diberikan yaitu antibodi primer dan antibodi sekunder. Antibodi primer akan berikatan dengan antigen pada jaringan dan antibodi sekunder diikuti dengan penambahan enzim SA-HRP (*Strepta Avidin Horseradish Proxidase*) dan substratnya berupa kromogen DAB (substrat dari proksidase) sehingga menghasilkan warna kecoklatan yang lebih jelas pada jaringan target.

Berdasarkan data penelitian (Tabel 5.1) rata-rata ekspresi FGF-2 pada K+ paling tinggi ( $41.69 \pm 0.95\%$ ) dan berbeda secara signifikan ( $P < 0.05$ ) dibandingkan semua kelompok terapi. Tingginya ekspresi FGF-2 menunjukkan proliferasi fibroblas dengan menghasilkan FGF-2 yang tinggi dengan terapi *Silver Sulfadiazine*. Hal tersebut didukung dengan pendapat Akita *et al.* (2013) bahwa



FGF-2 diproduksi oleh makrofag dan platelet pada fase inflamasi dan diproduksi oleh sel fibroblas pada fase proliferasi.



**Gambar 5.2** Gambaran mikroskopis ekspresi FGF-2 pada jaringan dermis kulit tikus metode immunohistokimia perbesaran (400x)

Keterangan : (A) Kontrol positif (B) terapi salep kolagen hidrolisat ikan 5% (C) terapi salep kolagen hidrolisat ikan 7,5% (D) terapi kolagen hidrolisat kolagen ikan 10% ( ▲ menunjukkan ekspresi FGF-2)

**Tabel 5.1 Data Ekspresi FGF-2**

Kelompok	Rata-rata Ekspresi FGF-2±SD (%)
K+(Kontrol positif)	41.69±0.95 <sup>c</sup>
P1(Terapi salep hidrolisat kolagen ikan 5%)	24.75±2.86 <sup>a</sup>
P2(Terapi salep hidrolisat kolagen ikan 7,5%)	28.37±1.78 <sup>a</sup>
P3(Terapi salep hidrolisat kolagen ikan 10%)	36.65±1.24 <sup>b</sup>

Keterangan : Perbedaan notasi menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok (P<0.05)



Pada hari kesepuluh termasuk dalam puncak proliferasi fibroblas, dimana fibroblas akan mengekspresikan FGF-2 sehingga FGF-2 jumlahnya meningkat. Berdasarkan penelitian Fuadi dkk. (2015) *Silver sulfadiazine* bersifat sebagai antibakteri serta mampu merangsang sel-sel seperti makrofag untuk menghasilkan *growth factor* dan sitokin seperti TGF- $\beta$ , EGF, IL1 dan lainnya sehingga mendukung proses penyembuhan luka.

Rata-rata jumlah ekspresi FGF-2 pada P1 ( $24.75 \pm 2.86$ )% dan P2 ( $28.37 \pm 1.78$ )% menunjukkan persentasi lebih rendah dibandingkan dengan K+ ( $41.69 \pm 0.95$ )% dan P3 ( $36.65 \pm 1.24$ )% (Tabel 5.1). Adanya perbedaan yang signifikan ( $P < 0.05$ ) tersebut menunjukkan penggunaan konsentrasi salep kolagen hidrolisat ikan 5% dan 7,5% belum efektif dalam membantu proses kesembuhan luka bakar. Pada penelitian Latifa (2017) konsentrasi terbaik penggunaan kolagen dalam meningkatkan proliferasi fibroblas yaitu konsentrasi 10% selama 14 hari. Luka bakar derajat IIB yang diterapi salep kolagen hidrolisat kolagen 10% diduga mampu mempercepat proliferasi fibroblas mengekspresikan FGF-2 secara optimal pada hari ke-10. Menurut Akita *et al.* (2013) FGF-2 diproduksi oleh makrofag dan platelet pada fase inflamasi yaitu hingga hari ke-3 pasca luka, hal ini menunjukkan bahwa pada hari ke-10 makrofag dalam jaringan jumlahnya mulai sedikit sehingga produksi FGF-2 digantikan oleh sel fibroblas.

Rata-rata ekspresi kelompok P3 ( $36.65 \pm 1.24$ )% menunjukkan persentasi yang lebih rendah secara signifikan ( $P < 0.05$ ) terhadap K+ ( $41.69 \pm 0.95$ )% (Tabel 5.1). Perbedaan signifikan kelompok P3 dan K+ menunjukkan bahwa penggunaan salep hidrolisat kolagen 10% masih kurang efektif dibandingkan dengan

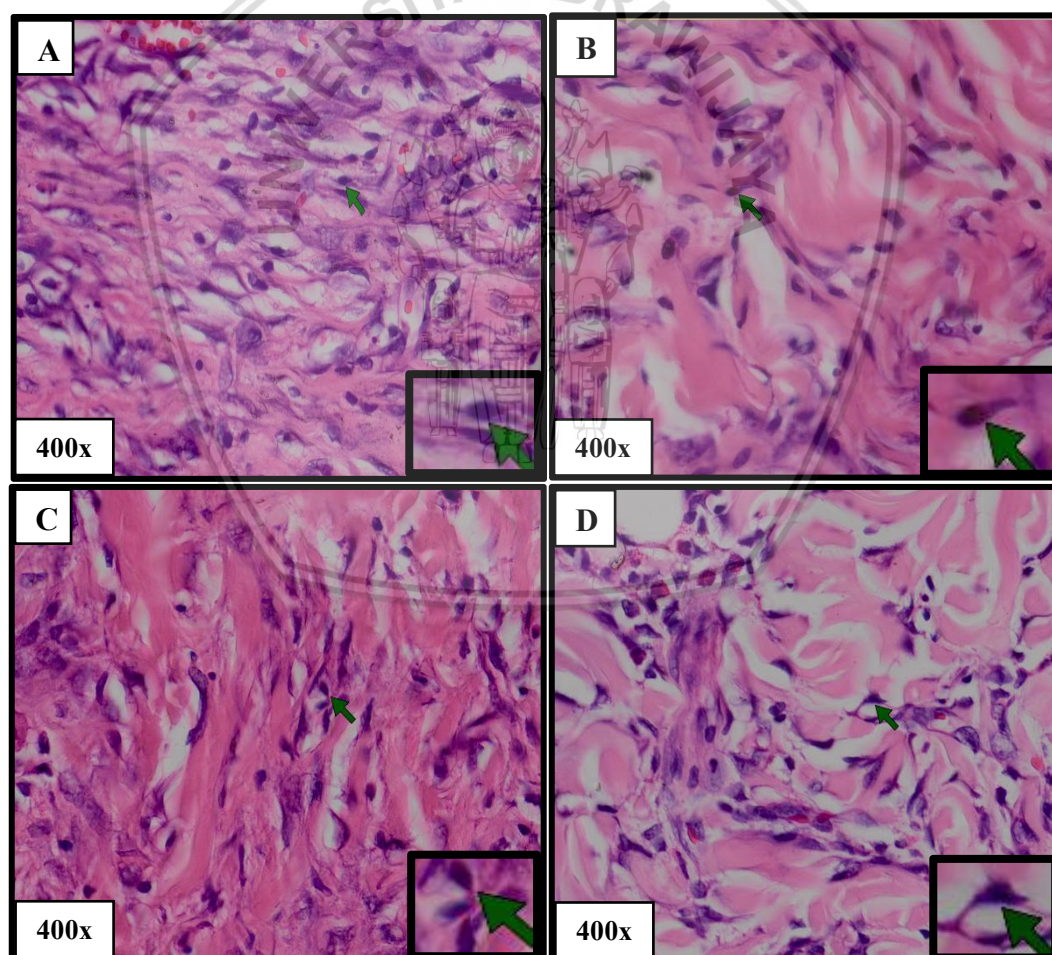
penggunaan obat *Silver sulfadiazine*. Menurut Fuadi dkk. (2015), golongan obat luka bakar tersebut memiliki keunggulan yaitu sifatnya sebagai antibakteri yang dapat mengurangi resiko infeksi sekunder, selain itu juga mampu menarik sel-sel imunitas seperti makrofag yang akan memproduksi biomaterial kesembuhan luka sehingga menjadikan obat tersebut lebih efektif penggunaannya dibandingkan dengan salep kolagen hidrolisat ikan dosis terbaik yaitu 10%.

Berdasarkan beberapa laporan keunggulannya, *Silver sulfadiazine* juga memiliki kekurangan yaitu iritatif dan bersifat toksik jika digunakan dalam jangka panjang. Menurut Hosseinimehr *et al.* (2010) terdapat beberapa efek dalam kesembuhan luka yang muncul seperti resistensi *Silver sulfadiazine*, toksisitas, leukopenia, serta penggunaannya tidak dapat berlangsung pada periode yang lama. Pada penelitian Paddle *et al.* (2008) efek toksis silver pada luka bakar yaitu mengganggu proses sintesis pada fibroblas dan keratinosit. Namun penggunaan hingga mencapai toksik membutuhkan waktu cukup lama yang dibuktikan dengan penelitian Bidgoli *et al.* (2013) pemberian nanopartikel silver pada terapi 21 hari pasca luka bakar tidak menunjukkan gejala abnormal pada luka serta hasil pengujian beberapa organ ginjal, *liver*, *spleen*, dan lainnya tidak mengalami kelainan. Hal ini menunjukkan untuk mencapai konsentrasi toksik yaitu dengan pemberian silver diatas terapi 21 hari pasca luka bakar. Kandungan silver tersebut tidak hanya memiliki efek negatif namun, berdasarkan penelitian Tian *et al.* (2007) *silver* dapat menginduksi sel-sel imunitas dan sitokin serta menekan proses inflamasi sehingga dapat mempercepat kesembuhan luka. *Sulfadiazine* bekerja

dengan berkompetisi dengan substrat PABA untuk sintesis enzim *dihidropetroat* sehingga mencegah sintesis asam folat bakteri (Fuadi dkk., 2015)

## 5.2 Efek Pemberian Salep Hidrolisat Kolagen Ikan pada Tikus Pasca Luka Bakar Derajat IIB terhadap Jumlah Fibroblas

Hasil perhitungan fibroblas dilakukan dengan metode histopatologi pengecatan *hematoxylin eosin*. Fibroblas memiliki karakteristik ukuran yang cukup besar, inti berbentuk elips yang terwarnai ungu, memiliki sitoplasma yang terwarnai merah, serta kedua ujung sel berbentuk lancip (Gambar 5.3).



**Gambar 5.3** Gambaran mikroskopis jumlah sel fibroblas jaringan kulit tikus dengan pengecatan hematoxylin eosin perbesaran (400x)  
 Keterangan : (A) Kontrol positif (B) terapi salep hidrolisat kolagen ikan 5% (C) terapi salep kolagen hidrolisat ikan 7,5% (D) terapi kolagen hidrolisat kolagen ikan 10% ( menunjukkan sel fibroblas)

**Tabel 5.2 Data Jumlah Fibroblas**

<b>Kelompok</b>	<b>Jumlah Fibroblas Rata-rata±SD(sel)</b>
K+ (Kontrol positif)	46.50±1.66 <sup>d</sup>
P1 (Terapi salep hidrolisat kolagen ikan 5%)	22.70±0.86 <sup>a</sup>
P2 (Terapi salep hidrolisat kolagen ikan 7,5%)	32.56±0.28 <sup>b</sup>
P3 (Terapi salep hidrolisat kolagen ikan 10%)	40.06±1.24 <sup>c</sup>

Keterangan : Perbedaan notasi menunjukkan adanya perbedaan signifikan ( $P<0.05$ ) antar kelompok

Berdasarkan **Tabel 5.2** rata-rata jumlah fibroblas pada K+ (46.50±1.66) sel lebih tinggi dan berbeda signifikan ( $P<0.05$ ) dibandingkan semua kelompok terapi. Hal ini menunjukkan proliferasi fibroblas serta migrasi fibroblas ke area luka berjalan dengan baik dalam proses perbaikan jaringan. K+ merupakan kelompok yang diberikan terapi obat *Silver sulfadiazine* yang merupakan *gold standart* dalam mengobati luka bakar derajat II maupun III. Obat tersebut mengandung agen antibakteri yaitu golongan sulfonamid yang dapat menekan adanya infeksi bakteri pada luka. Menurut Nugraha dan Muhartono (2011) luka bakar merupakan tempat yang ideal untuk pertumbuhan bakteri karena permukaan yang luas dan kondisi yang cenderung basah. Hal ini memperkuat bahwa dalam penanganan luka bakar derajat IIB lebih efektif diberikan terapi obat antibakteri yang dapat mengurangi infeksi sekunder dalam kesembuhan luka. Kesembuhan tersebut ditunjukkan dengan banyaknya jumlah fibroblas yang mengisi lapisan dermis, terbentuknya pembuluh darah baru, dan re-epitelisasi sehingga terjadi penutupan luka yang baik.



Pengamatan pada hari ke-10 menunjukkan rata-rata jumlah fibroblas kelompok P1, P2, dan P3 yang diterapi dengan salep hidrolisat kolagen secara bertingkat mengalami peningkatan namun masih lebih rendah dibandingkan kelompok positif. Peningkatan antar perlakuan terapi menunjukkan adanya aktifitas kolagen hidrolisat ikan yang dapat membantu proliferasi fibroblas dalam kesembuhan luka bakar derajat IIB. Hal ini sesuai dengan pendapat Ohara *et al.* (2010), bahwa kolagen hidrolisat berperan dalam penyembuhan luka dengan adanya aktivitas kemotaksis dalam menstimulasi sel imunitas dan pembentukan faktor pertumbuhan yaitu FGF dan VEGF serta dalam proliferasi fibroblas.

Kelompok P1 menunjukkan rata-rata jumlah fibroblas ( $22.70 \pm 0.86$ ) sel yang merupakan rata-rata terkecil dan berbeda signifikan ( $P < 0.05$ ) dari kelompok K+ ( $46.50 \pm 1.66$ ) sel, P2 ( $32.56 \pm 0.28$ ) sel maupun P3 ( $40.06 \pm 1.24$ ) sel (**Tabel 5.1**). Fase proliferasi merupakan fase terjadinya proliferasi serta migrasi fibroblas ke area luka, sintesis kolagen oleh fibroblas dan proses angiogenesis yang terjadi pada hari keempat serta meningkat pada hari ketujuh hingga hari kesepuluh (Joseph and Kloth, 2010). Berdasarkan literatur tersebut, pada kelompok P1 belum menunjukkan proliferasi fibroblas secara sempurna, mengingat bahwa proses pengambilan sampel yaitu pada hari kesepuluh dimana fibroblas seharusnya menunjukkan jumlah yang optimal.

Kelompok P2 menunjukkan rata-rata jumlah fibroblas sebesar ( $32.56 \pm 0.28$ ) sel yaitu lebih tinggi secara signifikan dibandingkan kelompok P1 ( $22.70 \pm 0.86$ ) sel serta dan lebih rendah secara signifikan terhadap kelompok P3 ( $40.06 \pm 1.24$ ) sel dan K+ ( $46.50 \pm 1.66$ ) sel (Tabel 5.1). Hal ini menunjukkan bahwa

proses perbaikan jaringan dalam kesembuhan luka terutama dalam fase proliferasi fibroblas belum terjadi secara sempurna. Pada fase proliferasi akan terbentuk jaringan granulasi yang terdiri dari berbagai sel terutama sel fibroblas dengan jumlah yang akan terus meningkat hingga memasuki fase remodeling yaitu hari kesepuluh. Peningkatan rata-rata kelompok P2 terhadap P1 yang signifikan membuktikan adanya aktifitas kolagen hidrolisat ikan yaitu mengadakan reaksi kemotaksis terhadap sel imunitas dan *growth factor* penyembuhan luka untuk mempercepat proliferasi fibroblas.

Kelompok P3 menunjukkan rata-rata jumlah fibroblas ( $40.06 \pm 1.24$ ) sel yang lebih tinggi secara signifikan ( $P < 0.05$ ) terhadap P1 ( $22.70 \pm 0.86$ ) sel dan P2 ( $32.56 \pm 0.28$ ) sel. Peningkatan jumlah sel fibroblas antar kelompok perlakuan terapi tersebut menunjukkan adanya mekanisme dari kolagen hidrolisat yaitu mengadakan reaksi kemotaksis terhadap makrofag yang menstimulasi pengeluaran *growth factor* secara optimal dan mempercepat proliferasi fibroblas, selain itu juga mengadakan migrasi fibroblas ke area luka sehingga mendukung proses kesembuhan luka. Hal ini sesuai dengan penelitian Ohara *et al.* (2010) peran kolagen hidrolisat pada fase inflamasi akan menarik makrofag dengan reaksi kemotaksis untuk menghasilkan *growth factor* penyembuhan luka, kemudian pada fase proliferasi berperan dalam migrasi fibroblas ke area luka dan sintesis kolagen.

Rata-rata jumlah fibroblas pada kelompok P3 ( $40.06 \pm 1.24$ ) sel lebih rendah dibandingkan K+ ( $46.50 \pm 1.66$ ) sel dan berbeda secara signifikan ( $P < 0.05$ ) menunjukkan bahwa terapi yang diberikan pada K+ lebih baik dibandingkan

kelompok terapi. K<sup>+</sup> menggunakan obat antibakteri *Silver sulfadiazine* dan P3 diterapi kolagen hidrolisat ikan yang memiliki mekanisme kerja berbeda dengan obat antibakteri. Menurut Fuadi dkk (2015) *Silver sulfadiazine* merupakan obat antibakteri golongan sulfonamid dengan mekanisme berkompetisi dengan substrat PABA untuk sintesis enzim *dihidropetroat* sehingga mencegah sintesis asam folat bakteri. Berbeda dengan mekanisme hidrolisat kolagen dalam penyembuhan luka yaitu menarik makrofag untuk mengadakan reaksi kemotaksis terhadap sel imunitas dan *growth factor* seperti FGF maupun VEGF sehingga mempercepat proliferasi (Ohara *et al.*, 2010). Perbedaan mekanisme kedua bahan terapi tersebut mengakibatkan proses kesembuhan luka yang terjadi antara kelompok kontrol dan terapi berbeda. Luka bakar merupakan tempat yang ideal untuk pertumbuhan bakteri karena luka tersebut cenderung memiliki perlukaan yang luas dan kondisi yang cenderung basah (Nugraha *et al.*, 2011). Selain hal tersebut keberadaan bakteri dapat dipicu dari kedalaman luka bakar serta ketidakseimbangan flora normal pada kulit akibat paparan luka bakar. Menurut Khazaeli *et al.* (2014) tikus putih memiliki luas permukaan kulit 377,2 cm<sup>2</sup> dengan ketebalan kulit 1-1,6 mm untuk luka bakar derajat IIB.

Menurut Desanti (2007), luka bakar dapat menurunkan fungsi kulit sebagai *barier* tubuh seperti meningkatkan resiko infeksi, meningkatkan pengeluaran cairan berlebih, serta menghilangkan flora normal dikulit sehingga resiko infeksi akan lebih tinggi. Adapun flora normal pada tikus menurut (Rigo *et al.*, 2013) yaitu *stapylococcus*, *streptococcus*, dan *psedomonas*.





## BAB 6 PENUTUP

### 1.1 Kesimpulan Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Salep kolagen hidrolisat ikan 10% pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan luka bakar derajat IIB merupakan konsentrasi terbaik dibandingkan konsentrasi 5% dan 7,5% yang dapat meningkatkan ekspresi FGF-2 ( $36.65 \pm 1.24$ )%
2. Terapi salep kolagen hidrolisat ikan konsentrasi 10% pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan luka bakar derajat IIB merupakan konsentrasi terbaik dibandingkan konsentrasi 5% dan 7,5% yang dapat meningkatkan jumlah fibroblas sebesar ( $40.06 \pm 1.24$ ) sel.

### 6.2 Saran Penelitian

Saran untuk penelitian lanjutan yaitu meningkatkan konsentrasi salep di atas 10% serta menambahkan antibakteri dalam salep kolagen hidrolisat ikan.

## DAFTAR PUSTAKA

- ABA. 2014. *American Burn Association: National Burn Repository Report of Data from 2003-2012*. National Burn Repository. America.
- Adinda, D. 2017. Pengaruh Pemberian Gel Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis*) Terhadap Ekspresi IGF-1 dan Gambaran Histopatologi Epidermis pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Luka Terbuka [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya
- Agustin, A.T. 2013. Gelatin Ikan : Sumber, Komposisi Kimia dan Potensi Pemanfaatannya. *Jurnal Perikanan* 1(5):1186-1159
- Aisyah, I., M. Zainatul, dan A. Ary. 2017. Pengaruh Pemberian Topikal Ekstrak Kulit Ikan Lele Sangkuriang Terhadap TNF-A dan Jumlah Fibroblas pada Luka Bakar derajat II Tikus Wistar. *Medical And health Science Journal* 1(1):225-229
- Akhoondinasab, M.R., Mothahare, A. and Mohsen, S. 2014. Comparison of Healing Effect of Aloe vera Extract and Silver Sulfadiazine in Burn Injuries in Experimental Rats Models. *World J Past Surg* 3(1) : 29-34
- Akita, S., A. Kozo, and H. Akiyoshi. 2013. Basic Fibroblast Growth Factor in Scarless Wound Healing. *Advances in Wound Healing Care* 2(2):44-48
- Andrade, A.L., J.L. Parisi, B. Patricia, and N.A. Parrizoto. 2017. Alternative Animal Model For Study of Total Skin Thickness Burn. *Journal Acta Fir Bras* 13(10):836-842
- Ardhani, M.Y. 2013. Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle L*) Terhadap Jumlah Makrofag Pada Fase Proliferasi Perawatn Luka Bakar I Derajat IIA Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya
- Ardlianawati, N. 2013. Efek Ekstrak Etanol Kedelai (*Glycine max*) Topikal Terhadap Peningkatan Densitas Kolagen pada Perawatan Luka Bakar Derajat II Tikus Wistar [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya.
- Bidgoli, S.A., Moujan, M. Seyed, M.R. Mitra, K. Amir, A. and Parica, Z. 2013. Toxicity Assesment of Nanosilver Wound Dressing in Wistar Rat. *Acta Medica Iranica* 51(4):203-208
- Bliska, A.T.G., L.J. Mar, J.B Jerzy, A.R. Dale, P.R. Lawrence, A. Ahmed, and M. A. Kay. 2013. Wound Healing The Role of Growth Factor. *Journal Drugs of today* 39(10):787-800

- Chai, H.J., H.L. Jing, and N.H. Han. 2010. Effect of Sizes and Conformations of Fish Scale Collagen Peptides on Facial Qualities and Transdermal Penetration Efficiency. *Journal Biomed and Biotechnology* 11(55):1-9
- Corwin, E. J. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. EGC., Jakarta. 45-46.
- David, C. 2007. *Buku Ajar Bedah bagian 1*. Sabiston Essential of Surgery. Philadelphia. 152-153
- Desanti, L. 2007. Pathophysiology and Current management of Burn Injury. *J Adv Skin Wound Care* 18: 323-333
- Djuwita, H., T. Widyaputri, A. Effendi, E.M Kaiin, dan Nurhidayat. 2010. Tingkat Pertumbuhan dan Analisa Protein Sel-sel Fibroblas Fetal Tikus Hasil Kultur in Vitro. *Journal IPB* 1(2):225-229
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Laporan Nasional*. Jakarta
- Fatimah, D., A. Jannah. 2008. *Efektivitas Penggunaan asam Sitrat dalam Pembuatan Gelatin Tuang Ikan Bandeng*.
- Fleck, C.A and R. Simman. 2010. Modern Collagen Wound Dressing, Function and Purpose. *Journal of the American college of certified Wound Specialist* 2(3):230-238
- Frisca, S., T.C. Sardjono, dan F. Sandra. 2013. *Angiogenesis : Patofisiologi dan Aplikasi Klinis*. FK Universitas Kristen Maranatha
- Fuadi, M.I., U. Elfiah, dan Musnawi. 2015. Jumlah fibroblas pada Luka bakar Derajat II pada Tikus dengan Pemberian Gel Ekstrak Etanol Kakao dan Silver sulfadiazine. *Jurnal Pustaka Kesehatan* 3(2):244-248
- Granick, M.S., and R.L. Gamelli. 2007. *Surgical Wound Healing and Management*. CRC Press., Francis. 1-15
- Hendarto, K.R. 2017. Studi Terapi Kitosan Kerang Darah (*Anadara granosa*) Terhadap Luka Insisi Hewan Model Nosokomial Dilihat dari Ekspresi IL-1 dan Jumlah Sel Radang [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya
- Inayah, R. 2014. Kemampuan Ekstrak Etanol Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata*) Terhadap Peningkatan Ekspresi *Fibroblast Growth Factor-2* (FGF-2) pada Jaringan Luka Bakar Derajat IIB Tikus Putih. [Tugas Akhir]. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya

- Isrofah, Sagiran, M. Afandi. 2012. Efektifitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera Cordifolia (Tenn) Stenis*) Terhadap Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat 2 Termal pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Muhammadiyah Jurnal of Nursing* 2(3):29-34
- James, M. B. 2008. *Essentials of Surgery*. Edisi 1. Saunders Elsevier., Philadelphia. 118-119
- Jeevithan, E., B. Bin, Z. Jingyi, H. Shaotong, and H. Wentiu. 2015. Purification, Characterization and Antioxidant properties of Low Molecular Weight Collageneus Polypeptide (37 kDa) Prepared From Whale Shark Cartilage. *Journal Food sci Technology* 52(10): 6312-6322
- Johnson, Mary. 2012. *Laboratory Mice and Rats*. The World of Laboratory. Synatom Research. United State
- Joseph, M.M., and L.C. Kloth. 2010. *Wound Healing Evidence Based Management*. 4<sup>th</sup> Ed. Contemporary Perspectives in Rehabilitation. Davis Company. Philadelphia
- Hosseinimehr, S.J., K. Ghasemali, A. Mohammad, Z. Peyman, G. Maryam, and A. Amirhossein. 2010. Effect of Aloe Cream Versus Silver Sulfadiazine for Healing Burn Wounds in Rats. *Acta Dermatovenerol Croat* 18(1):2-7
- Kamolz, L.P., M.G. Jeschke, and R. E. Horch. 2012. *Handbook of Burns Volume 2: Recontruction and Rehabilitation*. Springer., New York. 52-53
- Kanazawa. 2010. *bFGF Regulates PI3-kinase-Rac1-Jnk pathway and promotes Fibroblast Migration in Wound Heaking*. PloS One. 2010: 5(8) <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.001228>. [20 November 2017]
- Khazaeli, P., M. Karamouzian, S. Rohani, B. Shadegirad, and N. Ghalekani. 2014. Effect of Minoxidil Gel on Burn Wound Healing in Rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 13(01): 243-251
- Kumar, B.S.A., V. Prabhakarn, K. Lakshman, R. Nandeesh, P.Subramanyam, S. Khan, D. Ranganayakalu and N.V. Khrisna. 2008. *Pharmacognostical studies of Portulaca oleracea L*. Rev Bras Farmacogn. 18:4
- Latifa, S.P. 2017. Pengaruh Gel Ekstrak Kolagen Kulit Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) 10% terhadap Reepitelisasi pada Penyembuhan Luka Gingiva [Skripsi]. Fakultas Kedoktera Gigi. Universitas Gadjah Mada

- Larasati, P. C. 2016. Studi Terapi Ekstrak Etanol Krokot (*Portulaca oleracea* L.) Terhadap Ekspresi *Fibroblast Growth Factor 2* (FGF-2) dan Histopatologi Kulit Pasca Laparotomi pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Diabetes Militus [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya
- Lie, J., C. J. Kirsner. 2007. Pathophysiology of acute wound healing. *Clinics in Dermatology* 25(1): 9-18
- Marg, G. J., L.P. Kamolz, and S. Shahrokhi. 2013. *Burn Care and Treatment. A Practical Guide*. Springer. Canada. 14-20.
- Maryani., T.Surti, dan R. Ibrahim. 2010. Aplikasi Gelatin Tulang Ikan Nila Merah (*Oreochromis Niloticus*) Terhadap Mutu Permen Jelly. *Jurnal Saintek Perikanan* 6(1):62-70.
- Mescher, A.L. 2016. *Junqueira's Basic Histology Text and Atlas*. 4<sup>th</sup> Edition. Mc Graw Hill Education., Indiana. 97-100
- Mostert, M.E. 2009. *Molecular and Morphological Assessment of Invasive, Inland Rattus (Rodentia : Muridae) Congenerics in South Africa and Their Reservoir Host Potential with Respect to Helicobacter and Bartonella*. Disertasi. Tidak diterbitkan, Departement of Zoology and Entomology University of Pretoria, South Africa
- Mothumari, K. 2017. Collagen Extract from Marine Finfish Scales as a Potential Mosquito Larvicide. *J Protein* 35: 391-400
- Moya, M.L., M.H Cheng, and J.J. Huang. 2010. "The effect of FGF-1 loaded alginate microbeads on neovascularization and adipogenesis in a vascular pedicle model of adipose tissue engineering". *Journal Biomaterials* 31(10):2816-2826
- Mutholib, E.K., Fatimawati, and H.J. Edy. 2013. Formulasi Salep Ekstrak Etanol Daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes caprae*) Dan Uji Efektivitasnya Terhadap Luka Terbuka Pada Punggung Kelinci. *Jurnal ilmiah farmasi UNSRAT* 2(3):28-48
- Noviastuty, H.D. 2016. Pengaruh Pemberian Topikal Ekstrak Daun Dewa (*Gynura Segetum*) Terhadap Peningkatan Jumlah Fibroblas Luka Bakar Derajat II B pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya
- Nugraha, A., Muhartono. 2011. Perbandingan Tingkat Kesembuhan Luka Bakar Derajat II antara Pemberian Madu Topikal Nektar Kopi dengan *Silver Sulfadiazine* pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Spraguey Dawley. *Medical Journal of Lampung University* 3(2):24-32



- Nugroho, T. 2012. *Mengungkap tentang Luka Bakar dan Arthritis Reumatoid*. Nuha Medika., Jakarta. 34-52
- Ohara, H., S. Ichikawa, M. Akiyama, and Fujimoto. 2010. Collagen-derivad dipeptide, proline-hydroxyproline, Stimulated Cell Proliferation And Hyluruna acid Syntesis Culture Human Dermal Fibroblast. *Journal Dermatol* 37(4): 330-338
- Paddle, L.S.E., Nasa, Z. Cleland, H.H. 2007. Effect of Different Wound Dressing on cell Viability and Proliferation. *Plan Recunstr Sung* 117(7):8-110
- Panjaitan, T.F.C. 2016. Optimasi Ekstraksi Gelatin Dari Tulang Ikan Tuna (*Thunnus albacares*). *Jurnal Wiyata* 3(1):11-16
- Permatasari, O.A. 2016. Efektifitas Pemberian Ekstrak Etanol Daun Dewa (*Gynura segetum*) Dalam Meningkatkan Kepadatan Kolagen pada Luka Bakar derajat IIB Tikus Putih Galur Wistar [Tugas Akhir]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Potter, P.A., and A.G. Perry. 2007. *Buku Ajar Fundamental Keperawatan Konsep, Proses dan Praktik*. Edisi 4. Alih Bahasa Renata Kumalasari. EGC., Jakarta. 118-120
- Rahayuningsih, S. 2012. Efek Pemberian Ekstrak Aloevera Terhadap Kesembuhan Luka Bakar Level II Dalam Berdasarkan Jumlah Fibroblas pad Tikus Putih Galur Wistar [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Universaitas Brawijaya
- Ravikant, M., P. Soujana, and K. Manjunath. 2011. Heterogeneity of Fibroblast. *Journal of oral and maxillofacial* 15: 247-250
- Rezende, S.B., M.S. Riberio, S.C.Nunez, V.G.Garcia, and E.P. Maldonado. 2007. Effect of a singles near-infrared laser treatment on cutaneous wound healing:biometrical and histopatological study in rat. *Journal Photochem Photobiol* 87:53-145
- Robbin, L., N.R. Mitchell, V. Kumar. K. Abbas, and N. Fausto 2007. *Buku Ajar Patologi Robbins*. EGC., Jakarta. 110-118
- Sarabahi, S., and V.K. Tiwari. 2012. *Principle and Practice Wound Care*. SP Bajaj. Jaypee Brothers Medical Publishing., London. 232-236
- Sarimin, S. 2009. Evaluasi Kasus Luka Bakar di RS. Wahidin Sudirohusodo Periode Januari 2006-Maret 2009 [Skripsi]. Bagian Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hassanudin. Makasar



- Shai, A., and H.I. Maibach. 2007. *Wound Healing and Ulcers of the Skin. Diagnosis and Therapy*. Springer. New York. 7-14
- Sheridan, R.L. 2012. *Burn: A Practical Approach to Immediate Treatment and Long-Term Care*. Manson Publishing., London. 102-110
- Shingh, O., S. Gupta, N. Soni, S. Moshes, S. Sukhla, R. Mathur. 2015. Collagen Dressing Versus Conventional Dressing in Burn and Chronic Wound. *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery* 4(1): 12-16
- Sibilla, S., M. Goodfrey, S.Brewer. A.Raja, and L.Gerseve. 2015. An Overview of The Beneficial Effect of Hydrolysed Collagen as a Nutraceutical on Skin Properties : Scientific Background and clinical Study. *Nutraceuticals Journal* 8: 29-42
- Suprayitno. 2010. Ekstraksi Kolagen dari Limbah Kulit Ikan Tuna (*Thunnus sp*) Dengan Berbagai Konsetrasi. *Jurnal Penelitian Perikanan* 13(1) 23-31
- Suradi. 2007. *Perawatan Luka*. Edisi 1. Sagung Seto., Jakarta. 8-15
- The National Institute for Occupational Safety and Health. 2014. *Immediately Dangerous to Life or Health Concentration*. Centers for Disease Control and Preventing(CDC) <https://www.cdc.gov/niosh/idlh.html&hl=en-ID>. [10 Juni 2018]
- Tian, J., Kenneth, K.Y.W. Chi, K.H. Chun-Nam, L. Wing-Yiu, Y. Chiming, C. Sen, C. and Paul, K.H.T. 2008. Topical Delivery of Silver Nanoparticles Promote Wound Healing. *Chemical Chem* 2:129-136
- Xiaoyan, Y.E., Shaokui. Z. Wenguo, Y.U. Wenglong, W.U. Xianggen, and Z. Liming. 2008. Study on Nutrient Component ant the Extracting condition or The Skin Gelatin of Tilapia. *J South China Fisheris Science*, 14: 55-60.
- Werner, S. T. Kriegh., and H. Smola. 2007. H-Keratinocyte-Fibroblast Interaction in Wound Healing. *Journal of Investigative Dermatology* 127: 998-1008
- World Health Organization. 2012. Violence and Injury Prevention (VID) <http://www.who.int/violenceinjuryprevention/otherinjury/burns/en/index.html>. [24 Oktober 2017]
- Williams, S.L and D.P, Hopper. 2007. *Understanding Medical Surgical Nursing*. 3<sup>rd</sup> Ed. Davis Company.,Philadelphia. 211-215

- Yamamoto, K., K. Igawa, K. Sugimoto, Y. Yoshizawa, K. Yanagiguchi, Y. Ikeda, S. Yamada, and H. Yahashi. 2014. Biological Safety of Fish Tilapia Collagen. *Biomed Research International* 10: 1-9.
- Yovita, S. 2008. *Penanganan Luka Bakar*. Buku Ajar Ilmu Bedah. Edisi 2. EGC., Jakarta. 66-88
- Zhang, X.K. 2013. *An Atlas of Histology*. Springer Bussines Media., New York. 57-59
- Zhang, Z., J. Wang, Y. Ding, and X. Dai. 2015. Oral Admsnistration of Marine Collagen Peptides Prepared From Chum salmon Skin Enhances Cutaneous Wound Healing and Angiogenesis in Rats. *Journal Sci Food Agric* 91(2):2173-2179.
- Zhu, H., X. Wei, K. Biann, and F. Murad. 2018. Effect of Nitric Oxide of Skin Burn Wound Healing. *Journal of Burn Care and Research* 29(5):118-121
- Ziegler, T.R., and G.F. Pierce. 2012. *Growth Factors and Wound Healing Basic Science and Potential Clinical Application*. Springer., USA. 156-158.

