

**POTENSI PEMBERIAN LEMAK CAIR OMENTUM SAPI
TERHADAP EKSPRESI TGF- β DAN JUMLAH
FIBROBLAST PADA LUKA BAKAR
DERAJAT III TIKUS
(*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Oleh:
TRIYANA YULIKA ARMANTO
155130107111002



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

repository.ub.ac.id

**POTENSI PEMBERIAN LEMAK CAIR OMENTUM SAPI TERHADAP
EKSPRESI TGF- β DAN JUMLAH FIBROBLAST PADA
LUKA BAKAR DERAJAT III TIKUS
(*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:
TRİYANA YULIKA ARMANTO
155130107111002



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**POTENSI PEMBERIAN LEMAK CAIR OMENTUM SAPI TERHADAP
EKSPRESI TGF- β DAN JUMLAH FIBROBLAST PADA
LUKA BAKAR DERAJAT III TIKUS
(*Rattus norvegicus*)**

Oleh :
TRİYANA YULIKA ARMANTO
155130107111002

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 10 April 2019
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

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

drh. Fajar Shodiq Permata, M.Biotech
NIP. 19870501 201504 1 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc
NIP. 19631216 198803 1 002

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Triyana Yulika Armanto

NIM : 155130107111002

Program Studi : Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

Potensi Pemberian Lemak Cair Omentum Sapi Terhadap Ekspresi TGF- β dan Jumlah Fibroblast pada Luka Bakar Derajat III Tikus (*Rattus norvegicus*)

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari 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 di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 10 April 2019
Yang menyatakan,

(Triyana Yulika Armanto)
NIM.155130107111002

repository.ub.ac.id

**Potensi Pemberian Lemak Cair Omentum Sapi Terhadap Ekspresi TGF- β
dan Jumlah Fibroblast pada Luka Bakar Derajat III
Tikus (*Rattus norvegicus*)**

ABSTRAK

Luka bakar merupakan suatu fenomena pemindahan panas dengan sumber panas yang bervariasi, sehingga menyebabkan kerusakan jaringan kulit. Luka bakar dapat disebabkan oleh benda panas seperti logam, api, bahan kimia, aliran listrik maupun radiasi. Lemak omentum sapi diketahui memiliki kandungan asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh termasuk asam lemak esensial seperti asam linoleat dan asam linolenat juga asam lemak lainnya yang berperan penting dalam proses pertumbuhan dan kesehatan kulit serta dalam proses penyembuhan luka. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh terapi lemak cair omentum sapi terhadap ekspresi TGF- β dan jumlah fibroblast pada kulit tikus putih yang diinduksi luka bakar derajat III. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 18 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan umur 8 minggu dengan berat badan 100-150 gram dibagi menjadi 3 kelompok dengan 6 ulangan, yaitu KN (kontrol negatif), KP (tikus yang diinduksi luka bakar derajat III dan diterapi dengan salep konvensional luka bakar), dan P1 (tikus diinduksi luka bakar derajat III dan diterapi dengan lemak cair omentum sapi). Analisa data yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan analisa data secara kuantitatif yang dianalisa menggunakan uji statistik dengan *one-way* ANOVA, dan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) $\alpha=0,05$. Hasil penelitian didapatkan jumlah ekspresi TGF- β meningkat secara signifikan pada kelompok P1 dengan nilai sebesar $44,01 \pm 13,31\%$, dibandingkan dengan KN sebesar $20,85 \pm 3,10\%$ dan KP $28,40 \pm 2,94\%$. Jumlah rata-rata sel fibroblast juga meningkat secara signifikan pada kelompok terapi menggunakan lemak cair omentum sapi yaitu sebesar $70,77 \pm 15,25$ sel/lapang pandang, dibandingkan dengan kelompok negatif yaitu $21,70 \pm 1,90$ sel/lapang pandang dan kelompok positif menggunakan salep konvensional yaitu $40,70 \pm 6,91$ sel/lapang pandang. Kesimpulan penelitian ini ialah lemak cair omentum sapi dapat meningkatkan ekspresi TGF- β dan jumlah fibroblast secara efektif dan signifikan yang menyebabkan tercapainya kesembuhan luka bakar yang lebih cepat.

Kata Kunci : Luka Bakar, TGF- β , Jumlah Fibroblast

repository.ub.ac.id

**The Potency of Liquid Omental Cattle Fat Toward TGF- β Expression and
the Amount of Fibroblast of Third-Degree Burns on Rats
(*Rattus norvegicus*)**

ABSTRACT

Burns is a heat transfer phenomenon from some source that can cause damage to the skin. Burns can be caused by hot objects such as metal, flame, chemical material, electricity, and radiation. Omental cattle fat consists of saturated fatty acid and unsaturated fatty acid, also essential fatty acid such as linoleic acid and linolenic acid, also other fatty acids that play an important role in the growth process, also in wound healing process. This study aimed to determine the therapeutic effect of liquid omental cattle fat on the expression of TGF- β and the amount of fibroblast in rats induced by third-degree burns. This study used a completely randomized design with 18 rats (*Rattus norvegicus*) Wistar strain aged 8 weeks weighing 100-150 g divided into 3 groups with 6 replicates, negative control group, positive control group (rats induced with third-degree burns and treated using conventional salve for burns), and P1 (rats induced with third-degree burns and treated using liquid cattle omental fat). Data were analyzed by one-way ANOVA, and continued with Test Honestly Significant Difference (HSD) $\alpha=0,05$. The results of this research were the amount of TGF- β expression increased significantly in the P1 group with $44,01\pm 13,31\%$, than the negative control group $20,85\pm 3,10\%$, and positive control group $28,40\pm 2,94\%$. The average amount of fibroblast also increased significantly in the group that treated with liquid cattle omental fat or P1 $70,77\pm 15,25$ cell/field area, than the negative control group $21,70\pm 1,90$ cell/field area and positive control group that treated with conventional salve with the average $40,70\pm 6,91$ cell/field area. The conclusion of this research was liquid cattle omental fat can increase the expression of TGF- β and the amount of fibroblast effectively and significantly that cause a faster burn healing process.

Keywords : Burns, TGF- β , the Amount of Fibroblast

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan berkat dan anugrah-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “Potensi Pemberian Lemak Cair Omentum Sapi Terhadap Ekspresi TGF- β dan Jumlah Fibroblast pada Luka Bakar Derajat III Tikus (*Rattus norvegicus*)” ini dapat terselesaikan.

Selama menyusun skripsi, penulis banyak mendapatkan arahan, bimbingan dan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi yaitu :

1. Prof Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku dosen pembimbing I atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, bimbingan, dan arahan yang diberikan kepada penulis.
2. drh. Fajar Shodiq Permata, M.Biotech selaku dosen pembimbing II atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, bimbingan, dan arahan yang diberikan kepada penulis.
3. drh. Wawid Purwatiningsih, M.Vet selaku dosen penguji I yang telah memberikan saran dan kritik yang sangat membangun kepada penulis.
4. drh. Tiara Widyaputri, M.Si selaku dosen penguji II yang telah memberikan saran, kritik yang sangat membangun kepada penulis.
5. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
6. Kementrian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah memberikan kesempatan, kepercayaan, dan suport pendanaan serta pengalaman luar biasa dalam pelaksanaan Program Kreativitas Mahasiswa bidang Penelitian (PKM-P) tahun 2018 sehingga tercapainya penelitian ini.
7. Seluruh dosen dan civitas akademika yang telah membimbing, memberikan ilmu, dan mewadahi penulis selama menjalankan studi di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
8. Ibu Elisa Wildayana dan Bapak M. Edi Armanto yang tidak pernah lupa menyelipkan permohonan dan kasih sayang dalam setiap bait-bait doa yang selalu dipanjatkan, untuk tetap mendukung semua pilihan, serta Mas

- Fauzan, Mbak Astrid, Kak Fikri, Arcinoris dan Alya atas semua inspirasi dan kasih sayang, serta curahan dukungan yang tidak pernah ada habisnya.
9. Tim Patches BALAP, yaitu Gusti Aulia Rahman Suryaningrat, Rohmatul Lailiyah, Al Meisar Pramayanti, Rahmi Elfira dan Dyah Anggraeni atas semua waktu yang dicurahkan dan tanggung jawab yang dilaksanakan dalam penelitian ini.
 10. Dinar Riksa Sembada yang tetap berjuang bersama atas semua masukan, bantuan, serta dorongan semangat yang luar biasa.
 11. Nakdek x Nyinyir Squad yang selalu ada dan berenergi dimana pun dan kapanpun atas semua inspirasi dan dukungan yang diberikan.
 12. Ayam gepuk Dilek dan Caesa yang telah menempuh jenjang yang sama dalam bidang yang berbeda, atas semangat, dorongan serta keceriaan yang terus diberikan kepada penulis.
 13. ASIQUE 2015 dan DNA 2015 atas semangat, inspirasi, serta keceriaan dan semua dorongan ambisi yang luar biasa yang menemani dalam masa kuliah yang menyenangkan.

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

Akhir kata, penulis berharap semoga Tuhan Yang Maha Esa. membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan hasil dari penelitian ini dapat memberikan manfaat dan menambah pengetahuan tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi pembaca.

Malang, 10 April 2019

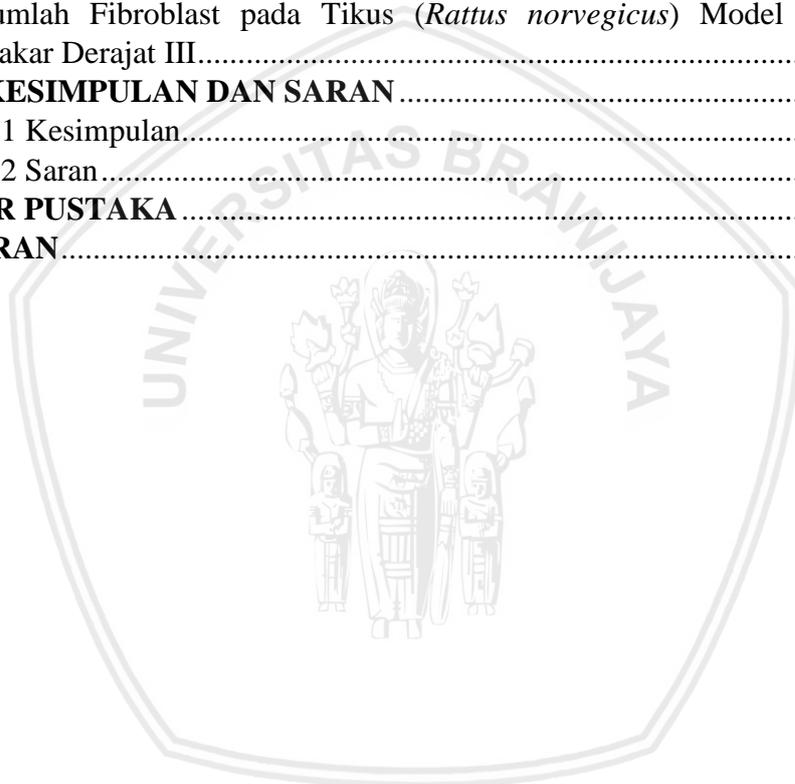
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Luka Bakar	6
2.1.1 Etiologi Luka Bakar	6
2.1.2 Klasifikasi Luka Bakar	7
2.1.3 Patomekanisme Luka Bakar	10
2.1.4 Fase Penyembuhan Luka Bakar	12
2.2 Kulit	15
2.2.1 Anatomi dan Struktur Kulit	16
2.3 Lemak Omentum Sapi	17
2.4 TGF- β	20
2.5 Fibroblast	21
2.6 Tikus Wistar (<i>Rattus norvegicus</i>)	22
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	24
3.1 Kerangka Konseptual	24
3.2 Hipotesis Penelitian	29
BAB 4 METODE PENELITIAN	30
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	30
4.2 Alat dan Bahan	30
4.3 Rancangan Penelitian	31
4.3.1 Pengulangan	32
4.3.2 Variabel Penelitian	32
4.4 Tahapan Penelitian	33
4.4.1 Persiapan Hewan Coba	33
4.4.2 Sterilisasi Lemak Omentum	33
4.4.3 Perlakuan Luka Bakar Derajat III pada Hewan Coba	34
4.4.4 Pemberian Terapi Lemak Cair Omentum Sapi	35
4.5.5 Euthanasi dan Pengambilan Sampel Kulit	35
4.5.6 Pembuatan Histopatologi Kulit	36
4.4.7 Pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i>	38



4.4.8 Pewarnaan Immunohistokimia TGF- β	39
4.4.7 Pengamatan Ekspresi TGF- β	40
4.4.8 Penghitungan Jumlah Fibroblast	41
4.5 Analisa Data	41
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN	42
5.1 Gambaran Makroskopis Hasil Terapi Lemak Cair Omentum Sapi dan Salep Konvensional terhadap Luka Bakar Derajat III Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	42
5.2 Pengaruh Pemberian Lemak Cair Omentum Sapi terhadap Ekspresi TGF- β pada Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Model Luka Bakar Derajat III	44
5.3 Pengaruh Pemberian Lemak Cair Omentum Sapi terhadap Jumlah Fibroblast pada Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Model Luka Bakar Derajat III.....	48
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	53
6.1 Kesimpulan.....	53
6.2 Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN.....	59



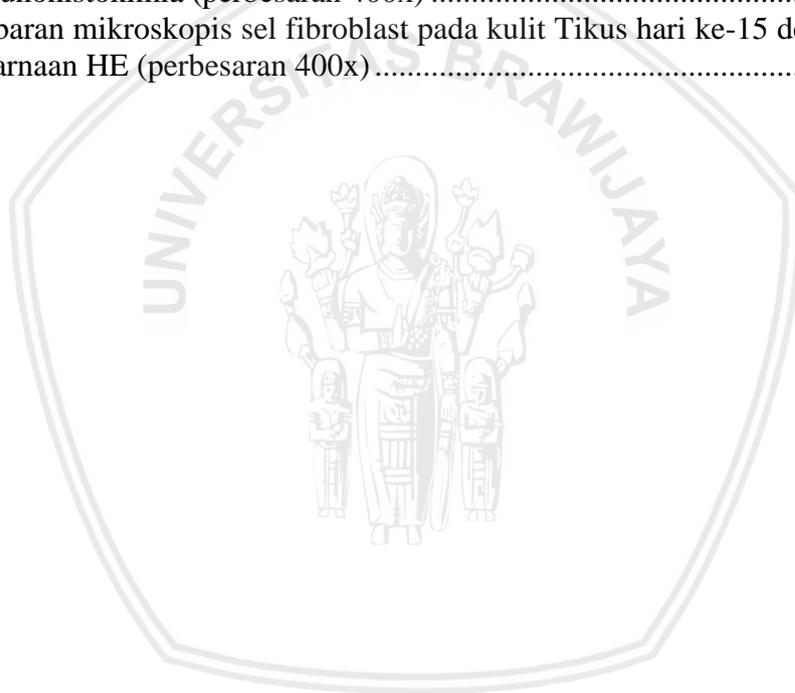
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Komposisi asam lemak sapi.....	18
4.1 Desain kelompok penelitian.....	31
4.2 Variabel penelitian.....	32
5.1 Rata-rata ekspresi TGF- β	45
5.2 Rata-rata jumlah sel fibroblast.....	49



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Luka bakar derajat I	8
2.2 Luka bakar derajat IIa	8
2.3 Luka bakar derajat IIb	9
2.4 Luka bakar derajat III.....	10
2.5 Pembagian zona pada luka bakar	11
2.6 Anatomi kulit	16
2.7 Fibroblast	22
2.8 Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	23
5.1 Gambaran luka bakar derajat III pasca induksi.....	42
5.2 Gambaran makroskopis luka bakar setelah diterapi pada hari ke-14.....	43
5.3 Ekspresi TGF- β pada kulit Tikus hari ke-15 dengan pewarnaan Immunohistokimia (perbesaran 400x)	44
5.4 Gambaran mikroskopis sel fibroblast pada kulit Tikus hari ke-15 dengan pewarnaan HE (perbesaran 400x)	48



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Surat Laik Etik	60
2. Skema Penelitian.....	61
3. Pembuatan Preparat Histologis Kulit dengan Pewarnaan HE.....	62
4. Pewarnaan Immunohistokimia untuk TGF- β	63
5. Perhitungan Volume Anestesi	64
6. Luas Luka Bakar	65
7. Data Rata-Rata Ekspresi TGF- β	66
8. Hasil Uji Statistika Ekspresi TGF- β	67
9. Data Rata-Rata Jumlah Sel Fibroblast	69
10. Hasil Uji Statistika Jumlah Sel Fibroblast	70
11. Dokumentasi Kesembuhan Luka Bakar.....	72
12. Dokumentasi Kegiatan Penelitian.....	74



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
atm	: Atmosfer
ATP	: <i>Adenosine Triphosphate</i>
BB	: Berat Badan
cm	: centimeter
DAB	: <i>Diamanobenxidine</i>
DHA	: <i>Docosahexaenoic Acid</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
EPA	: <i>Eicosapentaenoic Acid</i>
g	: gram
HE	: <i>Hematoxylin Eosin</i>
IgG	: <i>Immunoglobulin G</i>
IHK	: Imunohistokimia
IL-1	: <i>Interleukin-1</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
kg	: kilogram
LPS	: Lipopolisakarida
mg	: miligram
mL	: mililiter
PBS	: <i>Phospat Buffered Saline</i>
PDGF	: <i>Platelet Derived Growth Factor</i>
RAL	: Rancangan Acak Lengkap
SA-HRP	: <i>Strep Avidin Horse Radish Peroxidase</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor β</i>
TNF	: <i>Tumor Necrotizing Factor</i>
TSP-1	: <i>Thrombospondin-1</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka bakar adalah kerusakan atau kehilangan jaringan yang disebabkan oleh kontak dengan objek panas, terkena cairan kimia, jalaran sumber listrik serta radiasi (Moenadjat, 2005). Derajat kedalaman luka bakar dapat dikelompokkan menjadi empat derajat berdasarkan sumber, penyebab, dan lama kontak dengan tubuh. Luka bakar derajat III (*full thickness*) merupakan derajat luka bakar yang menyebabkan kerusakan cukup parah dan sulit disembuhkan (Barbara *et al.*, 2013). Kulit yang terbakar terlihat berwarna keabuan hingga hitam kering (nekrotik) (Anggowarsito, 2014).

Adanya luka pada tubuh akan menginduksi respon perbaikan jaringan yang rusak. Respon perbaikan ini terdiri atas tiga fase, yaitu fase inflamasi (reaktif), fase proliferasi (reparasi), dan maturasi (remodeling) (Tiwari, 2012). TGF- β dalam penyembuhan luka berperan sebagai *growth factor* yang bertanggung jawab terhadap peningkatan jumlah dan proliferasi fibroblast (Gurtner, 2007). Fibroblast berperan penting dalam proses proliferasi dalam penyembuhan luka. Fibroblast membentuk matriks ekstraseluler dan secara bertahap akan digantikan dengan pembentukan kolagen yang akan menautkan luka.

Luka bakar sendiri menyebabkan mortalitas dan cacat yang cukup tinggi dibandingkan cedera lain. Biaya penanganan luka bakar pun umumnya cukup tinggi. Saat ini untuk pengobatan luka bakar di masyarakat biasanya menggunakan salep berisi ekstrak plasenta 10% dan antibiotik *neomicyn*

sulfate 0,5%. Namun saat ini penggunaan antibiotik cukup dibatasi sehingga akan lebih bijak untuk tidak menggunakan antibiotik pada luka yang tidak terinfeksi. Salep ini juga menunjukkan adanya gejala seperti kulit yang kemerahan, gatal dan bengkak pada kulit yang alergi terhadap ekstrak plasenta dan antibiotik *neomicyn sulfate*. Oleh karena itu diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai bahan alternatif untuk pengobatan luka bakar menggunakan bahan-bahan alami yang diharapkan dapat memberikan efek yang lebih baik daripada salep konvensional. Salah satu bahan yang kandungannya berpotensi dalam membantu penyembuhan luka dan belum banyak diteliti sebagai alternatif dalam pengobatan luka bakar adalah lemak omentum sapi.

Lemak omentum sapi sendiri merupakan bahan yang produksinya cukup besar dan tersedia dengan jumlah banyak di Indonesia (Da Cunha *et al.*, 2009). Beberapa kandungan asam lemak yang ada dalam lemak sapi memiliki banyak manfaat dalam proses penyembuhan luka yang sampai saat ini belum banyak diteliti dan dikembangkan dalam bidang medis. Turunan asam lemak omega-6, yaitu asam arakidonat yang memiliki peran sangat penting dalam fase inflamasi memiliki peran mengakhiri fase ini dengan menghasilkan lipoxins yang merupakan mediator anti inflamasi (Charles, 2007).

Asam laurat yang merupakan asam lemak jenuh memiliki fungsi antiviral dan antibakteri, dengan merusak struktur *lipid bilayer* virus dan membran sel bakteri. Adanya asam lemak ini juga berkaitan dengan peningkatan aktivitas TGF- β (Agero *and* Verallo, 2004). Adanya kandungan

DHA (*Docosahexaenoic Acid*) dan EPA (*Eicosapentaenoic Acid*) yang merupakan turunan omega-3 juga akan meredam inflamasi, dimana kedua asam lemak ini juga terbukti membantu fibroblast dalam mensintesis kolagen sehingga mempercepat kesembuhan luka (Charles, 2007; Hankenson *et al.*, 2000). Kandungan lain seperti asam oleat juga berfungsi menjaga kelembapan kulit yang merupakan lingkungan baik bagi kulit dalam proses penyembuhan luka. Suasana yang lembab (*moist*) akan mempercepat proses re-epitelisasi, menstimulasi proliferasi dan migrasi sel epitel, maupun memperbanyak aktivitas *growth factor* (Field, 1994).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui potensi pemberian lemak cair omentum sapi dalam pengobatan luka bakar melalui ekspresi TGF- β dan jumlah fibroblast pada hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*).

1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan pada penelitian ini, adalah sebagai berikut :

1. Apakah pemberian lemak cair omentum sapi dapat meningkatkan ekspresi TGF- β pada luka bakar derajat III Tikus (*Rattus norvegicus*) jika dibandingkan dengan penggunaan salep konvensional berisi ekstrak plasenta dan antibiotik *neomicyn sulfat*?
2. Apakah pemberian lemak cair omentum sapi dapat menaikkan jumlah fibroblast pada luka bakar derajat III Tikus (*Rattus norvegicus*) jika dibandingkan dengan penggunaan salep konvensional berisi ekstrak plasenta dan antibiotik *neomicyn sulfat*?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka penelitian ini dibatasi pada :

1. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar*, dengan jenis kelamin jantan, umur 8 minggu dan berat badan 100-1500 gram. Penggunaan hewan coba ini telah mendapatkan sertifikasi dari Komisi Layak Etik Universitas Brawijaya dengan No. 928-KEP-UB (**Lampiran 1**).
2. Hewan coba tikus dibuat menjadi model luka bakar derajat III dengan cara membakar plat logam dengan diameter 24 mm dan ketebalan 1,83 mm selama 3 menit dan menempelkan plat logam ke punggung tikus yang teranestesi selama 4 detik.
3. Terapi pada tikus menggunakan lemak cair omentum sapi yang telah di sterilisasi dengan *autoclave* suhu 121°C sebanyak 1 mL secara topikal, dua hari sekali selama 14 hari dan salep konvensional berisi ekstrak plasenta 10% dan antibiotik *neomicyn sulfate* secara topikal, dua hari sekali selama 14 hari.
4. Metode terapi dengan lemak cair omentum sapi dilakukan dengan memanaskan lemak omentum sapi yang membeku pada suhu ruang dengan pembakar Bunsen selama 1 menit, lalu diberikan pada luka bakar tikus pada suhu 32°C.
5. Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah ekspresi TGF- β dengan metode Immunohistokimia dan jumlah fibroblast pada organ kulit dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE).

6. Analisa data menggunakan analisa kuantitatif dengan menggunakan *Software Immunoratio* yang diinterpretasikan dalam SPSS untuk data ekspresi TGF- β . Data ekspresi TGF- β dan jumlah fibroblast dianalisa dengan *one way ANOVA*, dilanjutkan dengan uji Tukey (Beda Nyata Jujur) dengan $\alpha=0,05$.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini, adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui pengaruh pemberian lemak cair omentum sapi terhadap ekspresi TGF- β pada luka bakar derajat III Tikus (*Rattus norvegicus*) jika dibandingkan dengan penggunaan salep konvensional berisi ekstrak plasenta dan antibiotik *neomicyn sulfate*.
2. Mengetahui pengaruh pemberian lemak cair omentum sapi terhadap jumlah fibroblast pada luka bakar derajat III Tikus (*Rattus norvegicus*) jika dibandingkan dengan penggunaan salep konvensional berisi ekstrak plasenta dan antibiotik *neomicyn sulfate*.

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diharapkan oleh penulis dari penelitian ini, adalah sebagai berikut :

1. Penelitian ini dapat digunakan sebagai kajian ilmiah pengaruh pemberian lemak cair omentum sapi terhadap ekspresi TGF- β dan jumlah fibroblast pada luka bakar derajat III Tikus (*Rattus norvegicus*).
2. Penelitian ini dapat digunakan sebagai literatur pemanfaatan pemberian lemak cair omentum sapi sebagai alternatif pengobatan luka bakar derajat III dalam dunia kedokteran hewan.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Luka Bakar

Luka bakar merupakan suatu fenomena pemindahan panas dengan sumber panas yang bervariasi. Hal ini dapat menyebabkan kerusakan jaringan kulit serta gangguan serius pada paru-paru, ginjal, dan hepar pada keadaan cedera multisistemik. Efek dan mortalitas luka bakar sangat ditentukan oleh luas serta dalamnya kulit yang terkena luka tersebut (Suwiti, 2010).

2.1.1 Etiologi Luka Bakar

Luka bakar bisa disebabkan oleh berbagai hal, menurut Moenadjat (2005), penyebab terjadinya luka bakar yaitu:

1. Luka bakar suhu tinggi (*Thermal burn*)

Luka bakar ini biasanya disebabkan oleh air panas (*scald*), kontak dengan api (*flam*), serta terpapar atau kontak dengan objek panas seperti logam panas.

2. Luka bakar bahan kimia (*Chemical Burn*)

Luka bakar ini disebabkan oleh senyawa asam kuat atau alkali yang sering digunakan dalam bidang industri militer, dapat juga terjadi karena bahan-bahan pembersih dalam rumah tangga.

3. Luka bakar listrik (*Electrical burn*)

Aliran listrik yang menjalar ke sepanjang bagian tubuh akan menyebabkan kerusakan pada pembuluh darah terutama bagian tunika intima yang menyebabkan gangguan sirkulasi ke distal.

4. Luka bakar radiasi (*Radiation injury*)

Luka bakar jenis ini disebabkan karena paparan radio aktif yang sering digunakan dalam keperluan terapeutik dalam kedokteran dan industri. Penyebab lainnya yaitu terpapar sinar matahari dalam waktu yang terlalu lama.

2.1.2 Klasifikasi Luka Bakar

Menurut WHO (2008), luka bakar menurut mekanisme dan penyebab dapat diklasifikasikan menjadi:

1. Luka bakar termal

Luka bakar ini biasanya mengenai kulit, yang disebabkan oleh cairan panas, kontak dengan benda padat panas, terkena senyawa kimia atau akibat aliran listrik.

2. Luka bakar inhalasi

Luka bakar ini disebabkan oleh terhirupnya gas panas, cairan panas atau produk-produk berbahaya hasil dari proses pembakaran tidak sempurna. Angka mortalitas luka bakar jenis ini cukup tinggi.

Luka bakar juga dapat diklasifikasikan berdasarkan kedalaman luka. Hal ini tergantung dari suhu dari sumber, penyebab, dan lama kontak dengan tubuh. Luka bakar dapat dibagi dalam empat derajat, yaitu:

1. Derajat I (*Superficial*)

Luka bakar dalam derajat ini seperti terlihat pada **Gambar 2.1** hanya mengenai bagian permukaan epidermis kulit. Manifestasi klinis terlihat kulit yang eritema, sedikit edema, nyeri karena

iritasi pada ujung syaraf sensoris dan jarang ditemukan bulla (Barbara *et al.*, 2013).



Gambar 2.1 Luka bakar derajat I (Hettiaratchy *and* Dziewulski, 2004)

2. Derajat II (*Partial thickness*)

Luka bakar derajat II menimbulkan kerusakan pada epidermis dan sebagian dermis dengan manifestasi klinis terjadi inflamasi disertai eksudasi, juga terdapat bulla disertai nyeri karena iritasi pada ujung syaraf sensoris (Anggowarsito, 2014).

A. *Superficial Partial thickness*

Pada luka jenis ini seperti **Gambar 2.2**, lapisan epidermis dan lapisan atas dermis rusak. Kulit eritema, edema, serta nyeri lebih terasa dibanding luka bakar derajat I. Luka ini sangat sensitif dan jika terkena tekanan akan terlihat pucat. Folikel rambut, kelenjar keringat dan sebacea masih ditemukan (Anggowarsito, 2014).



Gambar 2.2 Luka bakar derajat IIa (Hettiaratchy *and* Dziewulski, 2004)

B. *Deep partial thickness*

Hampir seluruh bagian dermis rusak seperti terlihat pada **Gambar 2.3**. Sering ditemukan bulla dengan dasar luka eritema yang basah. Permukaan luka berbercak merah dengan warna putih di sebagian tempat akibat variasi vaskularisasi. Luka terasa nyeri, namun tidak seperti pada luka derajat II dangkal. Folikel rambut, kelenjar keringat, serta sebacea terlihat tinggal sedikit (Anggowarsito, 2014).



Gambar 2.3 Luka bakar derajat IIb (Hettiaratchy *and* Dziewulski, 2004)

3. Derajat III (*Full thickness*)

Pada luka bakar derajat ini yang terlihat pada **Gambar 2.4**, melibatkan hampir semua lapisan kulit. Nyeri yang dirasakan tidak terlalu hebat karena hancurnya ujung saraf pada dermis (Barbara *et al.*, 2013). Tidak dijumpai bula pada luka ini, kulit yang terbakar berwarna keabuan hingga hitam kering (nekrotik). Dapat dijumpai eskar yang adalah hasil dari koagulasi protein dermis dan epidermis (Anggowarsito, 2014).



Gambar 2.4 Luka bakar derajat III (Hettiaratchy *and* Dziewulski, 2004)

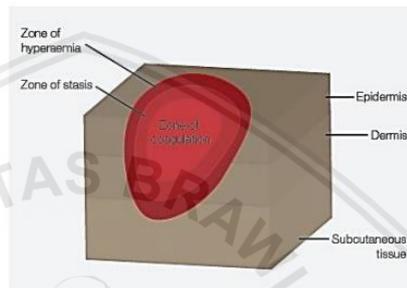
4. Derajat IV

Luka bakar derajat ini merupakan luka bakar dengan tingkat keparahan paling tinggi. Semua lapisan kulit termasuk struktur jaringan dibawahnya rusak, termasuk tulang, otot dan tendon. Kulit terlihat gelap dan gosong serta nyeri tidak dirasakan akibat syaraf yang telah rusak (Klein, 2007).

2.1.3 Patomekanisme Luka Bakar

Luka bakar disebabkan oleh perpindahan energi dari sumber panas ke tubuh, terutama kulit. Kulit yang tersentuh panas menyebabkan kerusakan pembuluh darah kapiler serta peningkatan permeabilitas. Peningkatan ini menyebabkan edema jaringan serta pengurangan pada cairan intravaskular. Kehilangan cairan pada luka bakar pada derajat I disebabkan oleh penguapan cairan yang berlebihan, pada derajat II oleh penumpukan cairan pada bulla, serta pengeluaran cairan dari keropeng pada luka bakar derajat III. Kehilangan cairan akan mempengaruhi keseimbangan cairan dan elektrolit tubuh akibat dari peningkatan permeabilitas pembuluh darah, sehingga terjadi perpindahan cairan dari intravaskular ke ekstravaskular melalui kebocoran kapiler. Hal ini mengakibatkan tubuh kehilangan banyak

natrium, air, klorida, dan protein plasma. Apabila luas luka bakar kurang dari 20% dari total permukaan tubuh, masih dapat terkompensasi oleh keseimbangan cairan tubuh. Apabila melebihi 20%, dapat menimbulkan resiko syok hipovolemik dengan tanda tanda gelisah, pucat, dingin, nadi menjadi lemah serta cepat, penurunan tekanan darah dan produksi urin (Chu, 2013).



Gambar 2.5 Pembagian zona pada luka bakar (Rudall *and* Green, 2010)

Luka bakar dapat dibagi menjadi tiga zona berdasarkan derajat kerusakan jaringan serta perubahan pada aliran darah seperti pada **Gambar 2.5**. Bagian tengah disebut sebagai zona koagulasi, dimana bagian zona ini paling banyak terpapar oleh panas dengan tingkat kerusakan paling berat. Panas diatas 41°C menyebabkan denaturasi protein, dimana juga mengakibatkan degradasi, koagulasi hingga dapat menyebabkan nekrosis jaringan. Selanjutnya ada zona stasis atau zona iskemik di luar zona koagulasi. Zona ini ditandai dengan perfusi jaringan yang menurun, zona ini berpotensi pada penyelamatan jaringan (Nisanci *et al.*, 2010). Daerah paling luar disebut sebagai zona hiperemis, dimana zona ini menerima peningkatan aliran darah melalui vasodilatasi (Tan *et al.*, 2013).

2.1.4 Fase Penyembuhan Luka Bakar

Penyembuhan luka adalah suatu proses yang kompleks melibatkan aktivitas bioseluler serta biokimia yang berkesinambungan. Proses ini mengaitkan komponen-komponen seperti respon vaskuler, aktivitas seluler, dan terbentuknya senyawa-senyawa kimia sebagai substansi mediator pada daerah luka dalam usaha penyembuhan. Saat terjadi luka, tubuh memiliki mekanisme mengembalikan komponen-komponen jaringan yang rusak dengan membentuk struktur baru yang fungsional (Ferreira *et al.*, 2006).

Pada luka bakar, proses kesembuhan sangat bergantung pada kedalaman luka. Luka bakar derajat I dan II superfisial, proses penyembuhan luka terjadi secara primer. Luka derajat II superfisial sembuh dari sisa epitel folikel rambut yang banyak ditemukan pada dermis superfisial. Pada luka bakar derajat II dalam dan derajat III, proses penyembuhan luka akan terjadi secara sekunder yang menyebabkan proses epitelisasi dan kontraksi. Proses penyembuhan luka secara garis besar dibagi menjadi tiga, yaitu fase inflamasi (reaktif), proliferasi (reparasi) dan maturasi (remodeling) yang akan terjadi untuk semua jenis luka, namun dapat terjadi perbedaan durasi tiap fase tergantung kondisi luka (Tiwari, 2012).

1. Fase Inflamasi

Respon inflamasi tubuh dimulai setelah terjadinya luka, dimana terdiri dari komponen vaskular dan selular. Respon vaskular terjadi sesaat setelah terjadinya luka bakar, dimana ditandai adanya

vasodilatasi dengan ekstrasvasasi cairan ke ruangan interstitial. Respon seluler ditandai dengan adanya sel neutrofil dan monosit yang akan bermigrasi ke area inflamasi (Tiwari, 2012).

Fase inflamasi akan berakhir pada hari ke-5, dimana tujuan utamanya adalah hemostasis, hilangnya jaringan yang mati dan pencegahan kolonisasi dan infeksi oleh mikrobial patogen. Komponen jaringan yang cidera akan mengakibatkan mobilisasi berbagai elemen darah ke lokasi luka. Platelet akan membentuk plak pada pembuluh darah, kemudian akan mengalami degranulasi dan melepaskan *growth factor*, seperti *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF) dan *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β) (Gurtner, 2007).

Mediator inflamasi seperti prostaglandin, Interleukin-1 (IL-1), *Tumor Necrotizing Factor* (TNF), C5a, dan produk degradasi bakteri seperti lipopolisakarida (LPS) akan menarik sel netrofil sehingga menginfiltrasi matriks fibrin dan mengisi kavitas luka. Neutrofil berperan memfagositosis jaringan mati dan mencegah infeksi. Makrofag juga akan menuju luka dan memfagositosis debris dan bakteri, juga memproduksi *growth factor* yang dibutuhkan dalam produksi matriks ekstraseluler oleh fibroblast dan pembentukan neovaskularisasi (Gurtner, 2007).

Sel mesenkim akan bermigrasi ke luka, membentuk sel baru yang berguna untuk regenerasi jaringan seperti tulang, kartilago, jaringan fibrosa, pembuluh darah, maupun jaringan lain. Fibroblast mulai

bermigrasi ke lokasi luka dan berproliferasi menghasilkan matriks ekstraseluler. Sel endotel pembuluh darah juga akan berproliferasi membentuk kapiler baru dan menandai dimulainya angiogenesis. Pada akhir fase inflamasi, mulai terbentuknya jaringan granulasi yang berwarna kemerahan, lunak dan granuler, dimana jaringan granulasi merupakan jaringan kaya vaskuler, berumur pendek, kaya fibroblast, kapiler dan sel radang namun tidak mengandung ujung syaraf (Anderson, 2000).

2. Fase Proliferasi

Fase proliferasi dimulai ketika luka telah bersih dari jaringan mati dan sisa material tidak berguna. Fase ini ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi pada luka, dimana jaringan ini merupakan kombinasi elemen-elemen seluler termasuk fibroblast dan sel inflamasi, diikuti dengan timbulnya kapiler baru. Fibroblast sendiri merupakan elemen utama yang berperan dalam proses perbaikan untuk pembentukan protein struktural yang berperan dalam pembentukan jaringan (Redjeki, 2001).

Keratinosit pada tepi luka menginduksi reepitelisasi. Fibroblast menyediakan kerangka untuk migrasi keratinosit dan membentuk matriks ekstraseluler dimana secara bertahap matriks ini akan digantikan oleh kolagen. Dengan bantuan protein sekretori EGF, FGF dan TSP-1 pembuluh darah baru akan terbentuk. Fibroblast akan segera hilang melalui proses apoptosis setelah matriks

kolagen telah mengisi kavitas luka dan pembentukan neovaskular juga akan menurun (Gurtner, 2007).

3. Fase Maturasi

Fase maturasi terdiri dari pembentukan jaringan penghubung selular dan penguatan epitel baru yang ditentukan oleh besarnya luka (Purnama dkk., 2017). Fase ini dimulai saat kavitas luka telah terisi jaringan granulasi dan proses reepitelisasi usai. Kontraksi luka akibat aktifitas myofibroblast dan remodeling kolagen terjadi pada fase ini. Kolagen tipe III akan secara bertahap digantikan menjadi kolagen tipe I dengan bantuan *Matrix Metalloproteinase* (MMP) yang disekresi oleh fibroblast, makrofag dan sel endotel. Pada akhir fase ini, jaringan yang baru terbentuk kekuatannya hanya akan mencapai 70% dari kekuatan jaringan sebelum terjadinya luka (Gurtner, 2007).

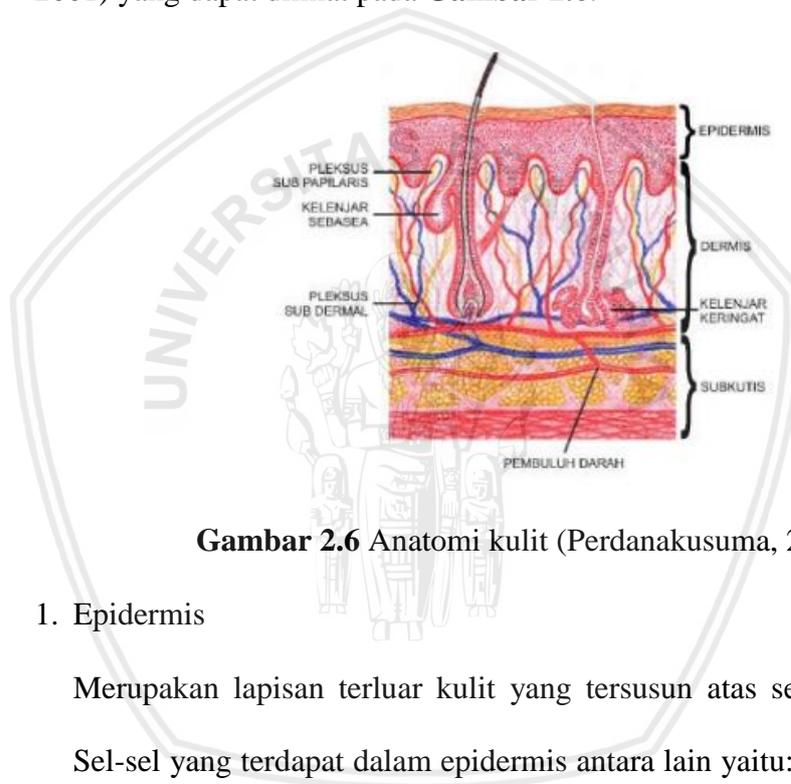
2.2 Kulit

Kulit adalah organ tubuh dengan peran seperti barier yang fungsi vitalnya melindungi dari kondisi luar lingkungan, dari pengaruh fisik, kimia, mencegah kehilangan dan kelebihan air dari dalam tubuh dan sebagai termoregulasi. Kulit bersifat lentur dan elastis, serta menutupi seluruh permukaan tubuh hingga 15% total berat badan. Fungsi proteksi kulit yaitu melindungi tubuh dari kehilangan elektrolit, trauma mekanik dan radiasi sinar ultraviolet, sebagai barrier dari invasi mikroorganisme patogen, merespon rangsangan sentuhan, rasa sakit dan panas karena banyaknya ujung syaraf, tempat penyimpanan nutrisi dan air yang dapat digunakan saat terjadi

penurunan volume darah dan tempat terjadinya metabolisme vitamin D (Perdanakusuma, 2007).

2.2.1 Anatomi dan Struktur Kulit

Kulit merupakan organ tubuh yang terbesar dan terdiri dari lapisan sel di permukaan. Struktur kulit terdiri atas tiga lapisan, yaitu epidermis, dermis, dan jaringan subkutan (Brunner *and* Suddarth, 2001) yang dapat dilihat pada **Gambar 2.6**.



Gambar 2.6 Anatomi kulit (Perdanakusuma, 2007)

1. Epidermis

Merupakan lapisan terluar kulit yang tersusun atas sel-sel epitel. Sel-sel yang terdapat dalam epidermis antara lain yaitu: keratinosit, melanosit, sel merkel dan sel langerhans. Epidermis terdiri atas lima lapisan yang apabila diurutkan dari lapisan terluar, yaitu: *stratum corneum*, *stratum lucidum*, *stratum granulosum*, *stratum spinosum* dan *stratum basale* (Price *et al.*, 2005).

2. Dermis

Merupakan lapisan kulit yang kaya akan serabut syaraf dan pembuluh darah limfe. Selain itu lapisan ini juga tersusun atas

kelenjar keringat, sebacea, dan folikel rambut. Dermis terdiri atas dua lapisan yaitu lapisan papilaris dan lapisan retikularis (Price *et al.*, 2005).

3. Hipodermis (Jaringan subkutan)

Lapisan ini merupakan lapisan kulit yang paling dalam. Penyusunnya berupa jaringan adiposa yang memberikan bantalan antara lapisan kulit dan struktur internal seperti otot dan tulang. Jaringan ini memungkinkan mobilitas kulit, perubahan kontur tubuh dan penyekatan panas (Price *et al.*, 2005).

2.3 Lemak Omentum Sapi

Lemak omentum adalah bagian lemak tubuh hewan yang letaknya berada pada rongga perut. Adanya lemak dalam tubuh, termasuk dalam abdomen terjadi karena energi hasil metabolisme zat gizi yang masuk ke dalam tubuh melebihi tingkat kebutuhan yang diperlukan oleh tubuh, baik untuk kebutuhan pokok hidup maupun untuk bereproduksi. Timbunan lemak pada abdomen juga dapat dijadikan indikasi bahwa telah terjadi pemborosan pakan (Oktaviana dkk., 2010). Pada sapi, persentase lemak tubuh per ekor adalah sekitar 12,2-18,6% dari total berat badan (Ginting dan Mahmilia, 2008).

Kandungan lemak pada daging terdapat dalam bentuk triglesirida yang terdiri atas ester asam lemak rantai panjang dengan gliserol. Asam lemak adalah bagian penting dari seluruh jaringan tubuh dan merupakan bagian utama senyawa fosfolipid membran sel (Tuminah, 2010). Komposisi asam lemak pada sapi secara lengkap dapat dilihat pada **Tabel 2.1** berikut ini.

Tabel 2.1 Komposisi asam lemak sapi

Asam Lemak	Persentase (%)
Asam Miristik C14:0	2,72
Asam Pentadecanoik C15:0	0,86
Asam Palmitat C16:0	25,33
Asam Palmitoleat C16:1	1,40
Asam Heptadekanoik C17:0	1,67
Asam Linoleat C18:2	0,75
Asam Oleat C18:1 (cis)	29,87
Asam Elaidik C18:1 (trans)	1,82
Asam Stearat C18:0	34,70
Asam Arakidat C20:0	0,28

(Da Cunha *et al.*, 2009)

Menurut Nursanyoto (1993), asam lemak tak jenuh (*unsaturated fatty acid*), biasa dikenal dengan asam lemak esensial, misalnya asam oleat, linoleat, dan arakidonat, berfungsi untuk membantu proses pertumbuhan, selain itu dapat mempertahankan kesehatan kulit terutama mencegah terjadinya peradangan kulit (*dermatitis*).

Dalam literatur lain disebutkan pula adanya kandungan asam lemak linolenat atau omega-3 sebesar 5,14 g/100 gram lemak pada sapi pemakan rumput (Daley *et al.*, 2010). Kandungan asam laurat sebesar 0,34% yang merupakan asam lemak jenuh pada sapi dapat berfungsi sebagai anti mikroba, anti kanker dan anti tumor (Murhadi *et al.*, 2009). Menurut Setiaji dan Prayugo (2006), asam laurat merupakan asam lemak jenuh yang mudah diserap ke dalam sel. Kemudahan penyerapan ini meningkatkan metabolisme sehingga sel akan bekerja lebih efisien dalam pembentukan sel yang baru dan regenerasi sel-sel yang rusak sehingga mempercepat penyembuhan luka (Silalahi *and* Surbakti, 2015). Kandungan asam laurat juga dapat merangsang aktifitas TGF- β yang akan berproliferasi dan menstimulasi dalam pembentukan benang fibrin. Gumpalan benang fibrin kemudian akan

membentuk kerangka reepitelisasi dan proliferasi fibroblast, sehingga akan mempercepat kesembuhan luka (Agero *and* Verallo, 2004).

Asam oleat yang terkandung cukup banyak dalam lemak sapi juga dapat menjaga kesehatan kulit dan memberikan kelembaban pada kulit. Kandungan asam oleat yang tinggi juga banyak ditemukan pada minyak zaitun yang memiliki banyak khasiat bagi kesehatan kulit (Mora dkk., 2013). Suasana yang lembab (*moist*) akan mempercepat proses re-epitelisasi, menstimulasi proliferasi dan migrasi sel epitel, maupun meningkatkan aktivitas *growth factor* dalam penyembuhan luka (Field, 1994).

Asam stearat, asam oleat, dan asam palmitat bersama gliserol di dalam tubuh bereaksi membentuk trigliserida. Trigliserida selanjutnya dikonversi menjadi asetil koenzim A yang merupakan katalisator pembentukan ATP, dimana ATP akan dibutuhkan tubuh untuk bekerja, terutama dalam penyembuhan luka (Omar *et al.*, 2010).

Menurut Williams *et al.*, (2003), asam lemak essensial yaitu asam linoleat (omega-6) dan asam linolenat (omega-3) berperan penting dalam proses penyembuhan luka. Asam linoleat (omega-6) akan dimetabolisme menjadi asam linoleat γ , kemudian menjadi Dihomo-gamma-linoleic acid dan kemudian menjadi asam arakidonat. Sedangkan Asam linolenat (omega-3) akan diubah menjadi asam stearidonic, *Eicosapentaenoic Acid* (EPA), kemudian menjadi asam docopentaenoic dan selanjutnya menjadi *Docosahexaenoic Acid* ((DHA) (Daley *et al.*, 2010).

Asam arakidonat memiliki peranan penting dalam proses penyembuhan luka yang menghasilkan leukotriene dan prostaglandin yang

menimbulkan inflamasi. Selain itu asam arakidonat dikonversi menjadi senyawa lipoxins yang merupakan mediator kimiawi anti-inflamasi berfungsi mencegah inflamasi yang terus menerus. Peralihan biosintesa dari asam arakidonat yang memproduksi mediator pro inflamasi menjadi beralih menghasilkan lipoxins dipengaruhi oleh regulasi enzim 15-LO (15-*Lipoxygenase*) yang terdapat di dalam sel neutrofil. Lipoxins memiliki fungsi merekrut monosit sebagai bahan pembentuk makrofag yang akan membersihkan sisa neutrofil. Asam arakidonat juga dapat mempengaruhi replikasi sel (Charles, 2007).

Adanya DHA (*Docosahexaenoic Acid*) dan EPA (*Eicosapentaenoic Acid*) yang merupakan turunan asam linolenat juga memiliki peranan penting dalam meredam inflamasi dan anti-inflamasi, dengan cara memblokir migrasi neutrofil. Neutrofil yang tidak dihentikan akan dapat merusak jaringan sekitar, sehingga luka tidak akan sembuh dengan cepat (Charles, 2007). EPA dan DHA telah terbukti pula dapat membantu meningkatkan jumlah sitokin IL-6, serta membantu fibroblast dalam mensintesis kolagen. Dengan meningkatnya sintesis kolagen maka kesembuhan luka juga akan semakin cepat berlangsung (Hankenson *et al.*, 2000).

2.4 TGF- β

Transforming Growth Factor β (TGF- β) merupakan sitokin polipeptida, yang meregulasi berbagai proses biologis, seperti pembentukan embrio, diferensiasi stem sel, regulasi imun, penyembuhan luka, dan inflamasi (Lifshitz *and* Frenkel, 2013). TGF- β sendiri bersumber dari platelet, makrofag, sel T, sel B, hepatosit, timosit, dan plasenta (Gurtner, 2007).

Karakteristik superfamili protein TGF- β adalah adanya propeptida yang panjang dan protein bioaktif matur yang dimerik (panjangnya 110-120 asam amino) (Breit *and* Wahl, 2001). TGF- β ditemukan di semua jaringan, tetapi sangat melimpah di tulang, paru-paru, ginjal dan plasenta (Branton *and* Kopp, 1999). Pada keadaan sembuh atau tidak terjadi luka, TGF- β akan terekspresi dalam jumlah normal.

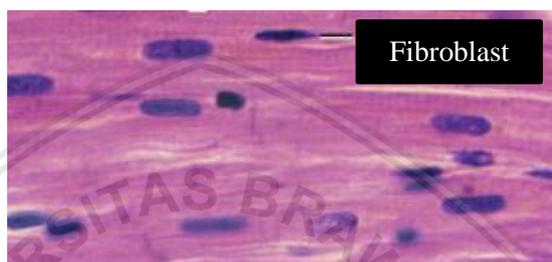
Growth factor ini memiliki peran yang penting dalam fase-fase penyembuhan luka. Pada fase inflamasi berlangsung, TGF- β berperan sebagai sitokin antiinflamasi yang bekerja menghambat proliferasi dan aktivasi leukosit oleh sitokin pro inflamasi sehingga fase inflamasi dapat dilalui dengan cepat. Pada fase proliferasi, TGF- β bekerja memicu angiogenesis dan menstimulasi proliferasi fibroblast, yang akan mensintesis kolagen yang penting dalam proses penyembuhan luka (Faler *et al.*, 2006).

2.5 Fibroblast

Fibroblast merupakan sel yang paling banyak ditemukan dalam jaringan ikat, sel ini mensintesis beberapa komponen matriks ekstraseluler (kolagen, elastin, retikuler), beberapa makromolekul anionik (glikosaminoglikans, proteoglikans) serta glikoprotein multiadhesif, laminin, dan fibronectin yang dapat mendorong perlekatan sel pada substrat. Sel ini juga mensekresikan sitokin dan beberapa *growth factors* yang dapat menstimulasi proliferasi sel dan menghambat proses diferensiasi (Juwita dkk., 2010).

Fibroblast seperti pada **Gambar 2.7** berukuran besar, gepeng dan bercabang-cabang langsing, berbentuk gelendong atau fusiform saat dilihat

dari samping. Inti fibroblast tampak pucat, selnya terlihat mengkerut dan terpulas gelap dengan pewarnaan basa. Biasanya batas sel tampak tidak nyata, intinya lonjong atau memanjang dan diliputi membran inti halus dengan satu atau dua anak inti, dan sedikit granula kromatin halus. Fibroblast tersebar di sepanjang berkas serat kolagen dengan ujung sel yang meruncing (Fawcett, 2002).



Gambar 2.7 Fibroblast (Bacha *and* Bacha, 2012)

Pada proses penyembuhan luka, fibroblast berperan sebagai sel utama dalam fase proliferasi. TGF- β akan menginduksi fibroblast berproliferasi, migrasi dan membentuk matriks ekstraseluler. Fibroblast akan segera menghilang saat proses proliferasi berakhir dan kavitas luka terisi matriks kolagen (Gurtner, 2007).

2.6 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Hewan coba merupakan hewan yang sengaja dipelihara dengan tujuan digunakan sebagai hewan model untuk pembelajaran dan perkembangan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorium. Hewan coba yang umum digunakan salah satunya adalah jenis tikus putih (*Rattus norvegicus*) (Tolistiawaty dkk., 2014). Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sering disebut juga dengan nama tikus norwegia, dengan taksonomi sebagai berikut (Sharp, 2013).

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Subordo : Myomorpha

Famili : Muridae

Genus : *Rattus*

Spesies : *Rattus norvegicus*



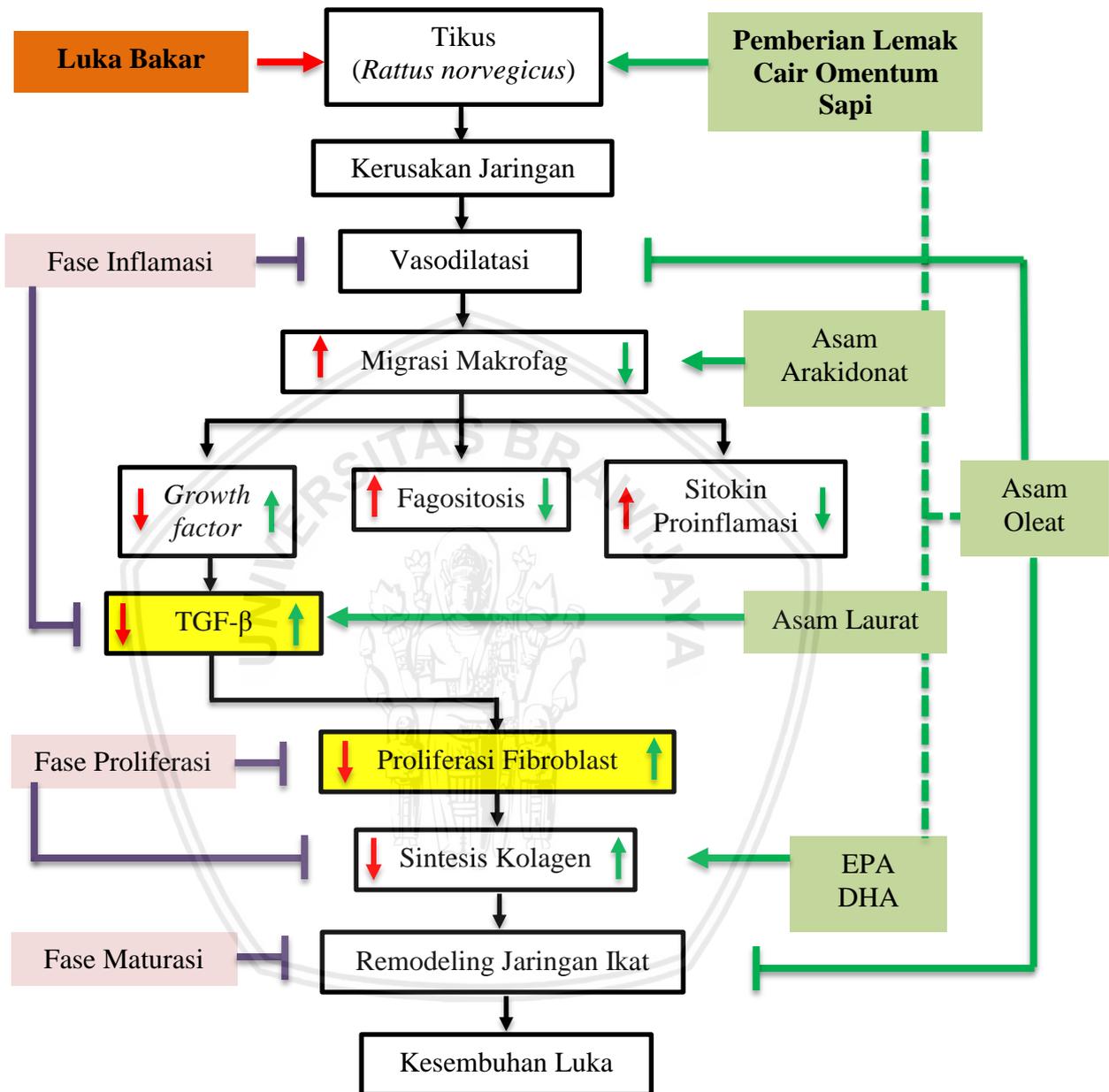
Gambar 2.8 Tikus putih (*Rattus norvegicus*) (Fauziyah, 2016)

Sebagai hewan coba dalam penelitian, tikus putih memiliki beberapa sifat menguntungkan, yaitu perkembangbiakannya yang cukup cepat, ukuran yang lebih besar dari mencit, serta mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak. Pada umur empat minggu berat tikus putih dapat mencapai 35-40 gram dan berat dewasa dalam kisaran 200-250 gram (Akbar, 2010). Masa hidup tikus ini berkisar antara 2.5-3.5 tahun. Tikus putih juga memiliki kecocokan DNA dengan manusia hingga 99% (Alexandru, 2011).

Tikus putih galur *Wistar* seperti pada **Gambar 2.8** merupakan strain yang paling banyak digunakan dalam penelitian laboratorium. Karakteristik strain ini yaitu kepala yang lebar, telinga yang panjang, dan panjang ekor yang selalu lebih pendek dari panjang badannya (Eggermont, 2012).

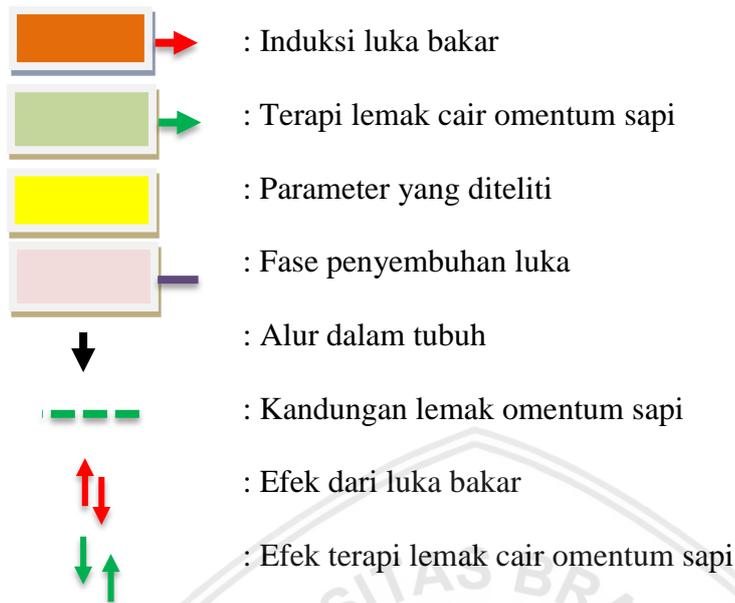
BAB III. KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

Keterangan :



Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan coba diberikan luka bakar dengan cara menempelkan plat logam berdiameter 24 mm dan tebal 1,83 mm yang telah dipanaskan pada pembakar bunsen selama 3 menit ke atas bagian punggung tikus yang telah dicukur selama 4 detik yang menyebabkan kerusakan pada jaringan kulit tikus yang teranestesi. Adanya luka ini akan memicu proses penyembuhan luka pada kulit tikus. Penyembuhan luka sendiri merupakan suatu proses kompleks melibatkan kegiatan seluler dan biokimia yang berkesinambungan yang akan mengembalikan komponen yang rusak dengan membentuk struktur baru yang fungsional. Ketika kulit mengalami cedera luka, tubuh akan mengaktifkan sistem hemostasis dan pembentukan agen pembekuan darah. Selanjutnya protein yang mengandung eksudat dilepaskan ke daerah luka sehingga mengakibatkan pelepasan histamin dan serotonin. Vaskularisasi akan merespon saat terjadi luka bakar, dimana ditandai adanya vasodilatasi dengan

ekstravasasi cairan ke ruangan interstitial. Respon seluler ditandai dengan adanya sel neutrofil dan monosit yang akan bermigrasi ke area inflamasi.

Platelet yang terbentuk akan mengalami degranulasi dan melepaskan growth factor, seperti *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β). Mediator inflamasi seperti prostaglandin, Interleukin-1 (IL-1), *Tumor Necrotizing Factor* (TNF), C5a, dan produk degradasi bakteri seperti lipopolisakarida (LPS) akan menarik sel netrofil untuk memfagositosis jaringan mati dan mencegah infeksi. Makrofag juga akan menuju luka dan memfagositosis debris dan bakteri, juga memproduksi *growth factor* yang dibutuhkan dalam produksi matriks ekstraseluler oleh fibroblast. Namun apabila proses inflamasi berlangsung berlarut-larut, dan migrasi neutrofil tidak dihentikan, berbagai mediator pro inflamasi akan terus terpicu keluar sehingga fase inflamasi berlangsung lama apabila tidak dihentikan dan sulit memasuki fase penyembuhan luka berikutnya.

Fase proliferasi akan dimulai setelah luka bersih, dimana *growth factor* seperti TGF- β akan menginduksi proliferasi fibroblast. Fibroblast berperan dalam proses perbaikan untuk pembentukan protein struktural yang berperan dalam pembentukan jaringan. Fibroblast juga membentuk matriks ekstraseluler, dimana secara bertahap matriks ini akan digantikan oleh kolagen. Terjadi kontraksi luka dan remodeling kolagen akibat aktivitas myofibroblast sehingga luka mengecil dan berangsur mengalami kesembuhan. Kolagen tipe III akan secara bertahap digantikan menjadi kolagen tipe I dengan bantuan *Matrix Metalloproteinase* (MMP) yang disekresi oleh fibroblast, makrofag dan sel endotel. Proses penyembuhan luka

sendiri akan berjalan lambat tanpa adanya stimulasi dari senyawa senyawa yang dapat membantu dalam percepatan penyembuhan luka, serta tanpa adanya perawatan memungkinkan terjadinya proses penyembuhan luka yang tidak kunjung usai dan memakan waktu yang lama.

Lemak omentum sapi memiliki berbagai kandungan asam lemak yang berfungsi membantu tubuh dalam mempercepat proses penyembuhan luka. Pada fase inflamasi, komponen asam arakidonat yang terkandung dalam lemak omentum sapi akan membantu mempercepat proses inflamasi, dimana akan menghasilkan leukotriene dan prostaglandin yang merupakan mediator pro inflamasi, sehingga terjadi peningkatan dan penambahan mediator pro inflamasi. Pada akhir fase inflamasi, asam arakidonat yang regulasi oleh enzim 15-LO (*15-Lipoxygenase*) dikonversi menjadi lipoxins yang merupakan mediator kimiawi anti-inflamasi untuk menghentikan proses inflamasi dan masuk ke fase berikutnya, juga lipoxins menginduksi makrofag untuk membersihkan debris pada sekitar luka.

Asam laurat akan bekerja sebagai antimikroba, yang akan membantu dalam pencegahan infeksi oleh bakteri. Asam lemak jenuh ini juga merupakan asam lemak yang mudah diserap ke dalam sel. Penyerapan ini akan meningkatkan metabolisme sehingga pembentukan sel yang baru dan regenerasi sel-sel yang rusak akan berlangsung cepat akibat kerja sel yang efisien. Kandungan asam laurat juga dapat merangsang aktifitas TGF- β yang akan menginduksi proliferasi fibroblast sehingga segera masuk ke tahap proliferasi.

Pada fase proliferasi, komponen turunan asam lemak omega-3 yaitu DHA (*Docosahexaenoic Acid*) dan EPA (*Eicosapentaenoic Acid*) yang terkandung dalam lemak omentum sapi memiliki peran menghentikan fase inflamasi, kemudian membantu fibroblast dalam mensintesis kolagen dalam fase proliferasi, sehingga proses proliferasi dapat dipercepat.

Adanya bantuan dari omega-3 dari lemak omentum sapi pada fase proliferasi yang akan menyebabkan fibroblast mengalami apoptosis, kemudian akan meningkatkan remodeling jaringan ikat dan mengakibatkan percepatan penyembuhan luka. Asam oleat yang banyak dikandung dalam lemak sapi juga akan berperan penting dalam menjaga kelembaban luka pada saat proses penyembuhan, dimana kondisi kelembaban yang tinggi merupakan salah satu aspek yang penting dan perlu dipertahankan dalam proses penyembuhan luka.

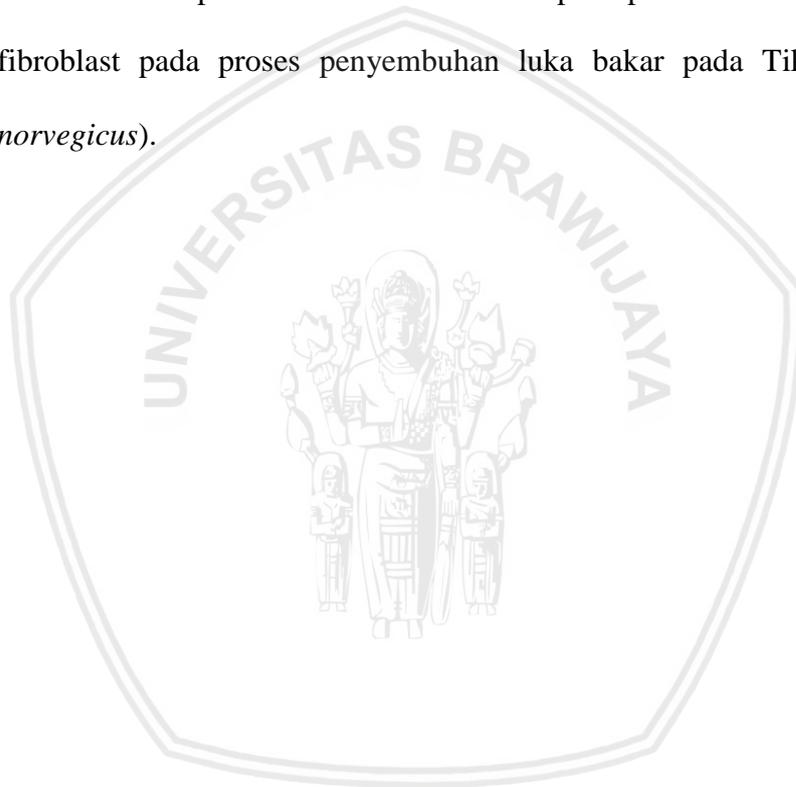
Adanya gabungan dari asam stearat, asam oleat, dan asam palmitat bersama gliserol di dalam tubuh akan membentuk triglesirida, yang akan dikonversi menjadi asetil koenzim A yang merupakan katalisator pembentuk ATP. ATP akan sangat berguna terutama memberikan energi untuk kegiatan sel terutama dalam penyembuhan luka, sehingga secara keseluruhan proses penyembuhan luka dapat dipersingkat.

Berdasarkan uraian kandungan dari lemak omentum sapi, maka diharapkan bahan tersebut dapat dikembangkan sebagai alternatif pengobatan luka bakar derajat III.

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konseptual yang telah diuraikan didapatkan hipotesis penelitian sebagai berikut :

1. Pemberian terapi lemak cair omentum sapi dapat menaikkan ekspresi TGF- β sebagai faktor yang berpengaruh dalam penyembuhan luka bakar pada Tikus (*Rattus norvegicus*).
2. Pemberian terapi lemak cair omentum sapi dapat menurunkan jumlah fibroblast pada proses penyembuhan luka bakar pada Tikus (*Rattus norvegicus*).



BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei hingga Juni 2018, kemudian dilanjutkan dengan pembacaan dan pengolahan hasil pada bulan Januari 2019. Dengan uraian tempat pelaksanaan penelitian sebagai berikut :

- a. Pemeliharaan hewan coba dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- b. Sterilisasi lemak omentum sapi dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang
- c. Pengoleksian sampel dilakukan di Laboratorium Histologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.
- d. Pembuatan preparat histopatologi kulit dan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) dilakukan di Laboratorium Histologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.
- e. Pewarnaan imunohistokimia dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- f. Proses pengamatan ekspresi TGF- β dan jumlah fibroblast dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang.

4.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang tikus, *nipple* minum tikus, timbangan, plat logam, *dissecting set*, *autoclave*, mikroskop

cahaya (Olympus BX51), silet, lemari pendingin, mikrotom, botol kaca, spuit injeksi 1 mL, dan pembakar bunsen.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih strain *Wistar (Rattus norvegicus)* jantan umur 8 minggu dengan berat 100-150 gram, lemak omentum sapi, *Normal Saline* 0,9%, alkohol bertingkat 70%, 80%, 90%, 95%, alkohol absolut, ketamin, xylazin, pakan, air minum, kapas, glove, masker, *underpad*, aquades, formalin 10%, parafin cair, *object glass*, *cover glass*, xylol, EWIT, entellan, *Mayer Hematoxylin*, *Eosin*, 3% H_2O_2 , PBS pH 7,4, antibodi primer *anti rat TGF- β* , antibodi sekunder *anti rabbit IgG*, *Strep Avidin Horse Radish Peroxidase* (SA-HRP), dan *Diamanobenxidine* (DAB).

4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental (*true experiment*) dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Dimana subjek dibagi menjadi 3 kelompok dengan tiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus yang desainnya dapat dilihat pada **Tabel 4.1** berikut:

Tabel 4.1 Desain kelompok penelitian

Kelompok	Keterangan
KN (Kontrol Negatif)	Tikus hanya diberi pakan berupa ransum dan air minum secara <i>ad libitum</i>
KP (Kontrol Positif)	Tikus diberi perlakuan luka bakar derajat III kemudian diterapi dengan menggunakan salep konvensional berisi ekstrak plasenta dan antibiotik <i>neomicyn sulfat</i> 2 hari sekali secara topikal selama 14 hari
P1	Tikus diberi perlakuan luka bakar derajat III kemudian diterapi dengan lemak cair omentum sapi 2 hari sekali sebanyak 1 mL secara topikal selama 14 hari

4.3.1 Pengulangan

Berdasarkan desain kelompok penelitian yang menggunakan 3 kelompok perlakuan. Jumlah ulangan masing masing kelompok perlakuan dalam rumus *ferderer* adalah sebagai berikut (Kusriningrum, 2008):

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

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

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Keterangan :

p : jumlah kelompok hewan coba

n : jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan di atas, maka untuk tiga kelompok hewan coba diperlukan jumlah ulangan paling sedikit enam kali dalam setiap kelompok, sehingga dibutuhkan 18 ekor hewan coba.

4.3.2 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini dapat dilihat dalam

Tabel 4.2 berikut:

Tabel 4.2. Variabel penelitian

Variabel Bebas	Luka bakar dan terapi lemak cair omentum sapi
Variabel Terikat	Jumlah fibroblast dan ekspresi TGF- β (<i>Transforming Growth Factor β</i>)
Variabel Kontrol	Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) dengan jenis kelamin jantan, umur 8 minggu, strain <i>Wistar</i> , berat badan 100-150 gram, pakan, dan kandang.

4.4 Tahapan Penelitian

4.4.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar* berjenis kelamin jantan hasil perkembangbiakan yang diperoleh dari Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dengan bobot berkisar 100-150 gram.

Tikus diadaptasikan selama tujuh hari dengan pakan *pellet*. Tikus dipelihara dalam kandang kelompok dan individu yang terbuat dari plastik dan tutup bagian atas terbuat dari rangka kawat. Pengadaptasian dilakukan di tempat yang bebas dari suara ribut dan terjaga dari asap industri dan polutan lain. Pakan diberikan setiap hari serta air minum diberikan secara *ad libitum*. Kebersihan kandang selalu dijaga, sekam diganti 2 hari sekali, sedangkan pasca perlakuan, *underpad* diganti setiap harinya.

4.4.2 Sterilisasi Lemak Omentum

Sterilisasi lemak omentum dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang. Sterilisasi adalah suatu proses menghancurkan atau memusnahkan mikroorganisme, termasuk spora, dari sebuah benda atau lingkungan. Sterilisasi juga bertujuan menjamin keamanan terhadap bahan atau pangan terhadap pencemaran oleh mikroorganisme dan memperpanjang waktu simpan (Purnawijayanti, 2001).

Sterilisasi lemak omentum menggunakan *autoclave*, dimana prinsip kerja *autoclave* sendiri yaitu mensterilkan berbagai macam alat dan bahan tahan panas dengan uap air panas bersuhu 121°C dengan tekanan 2 atm, dengan waktu 15 menit. Proses *autoclaving* lemak omentum sapi dimulai dengan mencuci dan memotong lembaran lemak omentum sapi. Kemudian lemak yang telah bersih dan terpotong kecil dimasukkan dalam botol kaca yang selanjutnya dibungkus dengan kertas pembungkus. Lemak sapi di *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit.

4.4.3 Perlakuan Luka Bakar Derajat III pada Hewan Coba

Pembuatan hewan model luka bakar derajat III dilakukan dengan menggunakan tikus putih strain *Wistar* berjenis kelamin jantan dengan bobot 100-150 gram berjumlah 18 ekor. Daerah *Musculus semimembrinosus* dan *semitendinosus* didesinfeksi dengan kapas yang diberi alkohol 70%, kemudian diinjeksikan kombinasi ketamin 10% dan xylazin 2% masing masing dengan dosis 100 mg/kgBB dan 20 mg/kgBB secara intramuskular dengan perhitungan volume pemberian dapat dilihat pada **Lampiran 5**.

Rambut pada bagian punggung tikus yang akan diberi luka bakar sekitar 5x5 cm dicukur hingga habis. Tikus dibaringkan pada meja preparasi. Plat logam berdiameter 24 mm dan tebal 1,83 mm dipanaskan diatas pembakar bunsen selama 3 menit, kemudian plat logam diletakkan pada punggung tikus selama 4 detik. Luka dikompres

dengan kapas yang diberi dengan *Normal Saline* 0,9% untuk mencegah adanya penyebaran luka bakar.

4.4.4 Pemberian Terapi Lemak Omentum Sapi

Tikus yang telah diberi perlakuan luka bakar derajat III diterapi berdasarkan kelompok. Kelompok KN atau kontrol negatif tidak mendapat perlakuan luka bakar dan terapi apapun. Terapi luka bakar pada kelompok KP atau kontrol positif menggunakan salep konvensional berisi ekstrak plasenta 10% dan antibiotik *neomicyn sulfate* 0,5% yang diberikan 2 hari sekali kemudian luka ditutup menggunakan lapisan *bandage* sekunder dan tersier. Sedangkan untuk terapi dengan lemak omentum sapi yang sebelumnya telah di *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit, tanpa ada pengenceran atau penambahan bahan yang dilakukan pada lemak, sehingga volume yang diberikan pada kelompok P1 semuanya diberikan dengan volume sebanyak 1 mL menggunakan spuit secara topikal 2 hari sekali kemudian luka ditutup menggunakan lapisan *bandage* sekunder dan tersier. Perawatan luka dilakukan pada hari ke-1 hingga hari ke-14.

4.4.5 Euthanasi dan Pengambilan Sampel Kulit

Pengambilan jaringan kulit pada hewan coba Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) dilakukan pada hari ke-15 pasca perlakuan dengan metode dislokasi servikal. Langkah awal dilakukan anestesi dengan kombinasi ketamin 10% dan xylazin 2% dengan dosis 100 mg/kgBB dan 10mg/kgBB pada hewan coba, selanjutnya dilakukan pemotongan pada bagian punggung tikus yang terdapat luka bakar. Anestesi

dilakukan agar luka tidak merenggang atau terganggu pada saat euthanasia dengan dislokasi servikal.

Tikus diletakkan dengan posisi dorso ventral pada papan penyayatan. Kemudian kulit dipotong mengikuti luas luka bakar masing masing tikus. Kemudian sampel kulit direndam dalam cawan petri berisi formalin 10% yang merupakan campuran formalin absolut 100% sebanyak 10 mL dan *Normal Saline* 0,9 % sebanyak 90 mL sebagai larutan fiksatif untuk selanjutnya dibuat preparat histologi dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) dan Imunohistokimia (IHK). Proses fiksasi adalah suatu usaha untuk menghentikan proses enzimatik sel tubuh secara cepat untuk mencegah autolisis (perombakan atau kerusakan sel yang telah mengalami kematian oleh kerja enzim), serta untuk mengawetkan jaringan dengan mempertahankan bentuk dan struktur alaminya (Jusuf, 2009).

4.4.6 Pembuatan Histopatologi Kulit

Organ kulit yang telah difiksasi dengan formalin 10 % yang dengan perbandingan organ dan larutan 1: 10 direndam minimal 2 hari (Muntiha, 2001). Langkah-langkah dalam pembuatan preparat histopatologi menurut Jusuf (2009) yaitu fiksasi, dehidrasi, penjernihan (*clearing*), *embedding*, *blocking*, pemotongan (*mounting*), dan penempelan di *object glass* serta pewarnaan.

Proses fiksasi merupakan suatu proses untuk menghentikan proses enzimatik sel tubuh secara cepat untuk mencegah autolisis (perombakan atau kerusakan sel yang telah mengalami kematian oleh

kerja enzim), serta untuk mengawetkan jaringan dengan mempertahankan bentuk dan struktur alaminya (Jusuf, 2009). Menurut Muntiha (2001), bahan fiksatif yang banyak digunakan adalah larutan formalin 10% dengan pH berkisar antara 6,5 – 7,5. Preparat direndam pada larutan fiksatif selama lebih dari 24 jam. Jaringan yang telah melalui proses fiksasi kemudian dipotong menggunakan pisau bedah yang tajam dan steril agar jaringan tidak mengalami kerusakan. Kemudian jaringan yang telah dipotong dalam proses *trimming* dimasukkan dalam *cassete* (Pratiwi dan Mannan, 2015).

Langkah selanjutnya kemudian dilakukan proses dehidrasi. Penarikan air keluar dari sel atau jaringan dilakukan dengan cara merendam jaringan dalam bahan kimia yang berfungsi sebagai dehidrator yang secara progresif konsentrasinya meningkat (Pratiwi dan Mannan, 2015). Dehidrasi dilakukan menggunakan larutan etanol secara bertingkat dari konsentrasi 70% selama 24 jam, etanol 80% selama 2 jam serta etanol 90%, 95%, dan absolut selama 20 menit. Proses dehidrasi berjalan dalam kondisi teragitasi dan pada suhu 4°C (Jusuf, 2009). Preparat kemudian dilakukan proses *clearing*. Dalam proses penjernihan, jaringan yang berada pada larutan alkohol absolut dimasukkan dalam larutan penjernihan, yaitu xylol I selama 20 menit dan xylol II selama 30 menit.

Kemudian dilanjutkan dengan *embedding*, yang dilakukan dalam parafin cair yang ditempatkan dalam inkubator bersuhu 58-60°C. Jaringan dimasukkan dalam parafin cair sampai memadat. Selanjutnya

dilakukan proses *blocking*. Digunakan cetakan yang terbuat dari plastic (*histoplate*) dan piringan logam, dimana *histoplate* diletakkan diatas piringan logam kemudian paraffin dituangkan sedikit ke dalam cetakan. Pinset digunakan untuk memasukkan jaringan dan diatur sedemikian rupa posisi jaringan. Selanjutnya paraffin cair dituang kembali menutupi seluruh lapisan jaringan. Menurut Muntiha (2001), sebaiknya blok paraffin dibiarkan membeku dan disimpan dalam *freezer* (-20°C) sebelum dilakukan pemotongan.

Setelah jaringan dan paraffin cair membeku, kemudian cetakan diletakkan pada penjepit mikrotom dan dipotong dengan ketebalan ± 5 μm . Potongan tersebut diletakkan secara hati-hati di atas permukaan air dalam waterbath bersuhu 46° C. Bentuk irisan kemudian dirapikan, lalu diletakkan di atas kaca obyek yang telah diolesi EWIT, yang berfungsi sebagai bahan perekat dengan *object glass* biasa untuk pewarnaan *Hematoxylin Eosin* dan dengan slide *Poly-L-Lysine* untuk pewarnaan Immunohistokumia. Kaca obyek dengan jaringan di atasnya disusun dalam rak khusus dan dimasukkan inkubator suhu 38-40°C selama 24 jam lalu siap diwarnai.

4.4.7 Pewarnaan Hematoxylin Eosin

Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* dilakukan dengan menggunakan zat warna *hematoxylin* yang akan memberi warna biru (basofilik) pada inti sel dan eosin yang akan mewarnai sitoplasma sel dan jaringan penyambung menjadi warna merah muda. Pewarnaan mulanya dilakukan dengan proses deparafinisasi dengan cara dimasukkan

preparat ke dalam larutan xylol I, II, dan III masing-masing 3 menit, kemudian pinggiran jaringan dibersihkan dengan kain kasa. Tahap berikutnya yaitu rehidrasi, dimana preparat dimasukkan ke dalam alkohol 100%, 95%, 80%, 70% secara berurutan masing - masing 3 menit. Kemudian preparat dialiri air mengalir 3 menit, dilanjutkan dengan pengecatan inti sel. Preparat dimasukkan ke dalam larutan Meyer hematoksilin selama 15 menit selanjutnya preparat dialiri dengan air mengalir selama \pm 3 menit dan dilanjutkan dengan direndam dalam alkohol 70 % I selama 3 menit, alkohol 70% II selama 3 menit, alkohol 70% III selama 3 menit. Berikutnya preparat dimasukkan ke larutan eosin 5 menit. Kemudian dilakukan dehidrasi, dengan memasukkan preparat ke dalam alkohol 70 %, 80%, 95%, 100% masing-masing 3 menit, dilanjutkan dengan proses *clearing* menggunakan xylol I, dan II masing-masing 3 menit. Tahapan berikutnya adalah *mounting*, dengan cara meneteskan preparat menggunakan entelan dan menutup dengan *object glass* (Ariadi dan Suryono, 2017).

4.4.8 Pewarnaan Immunohistokimia TGF- β

Preparat kulit yang belum diwarnai dimasukkan dalam *xylol I*, *xylol II* selama 10 menit untuk proses deparafinisasi. Kemudian dilakukan proses rehidrasi dengan menggunakan etanol bertingkat (100% I dan II, serta 70%), secara berurutan, dimana masing-masing direndam selama 10 menit. Slide lalu dicuci dalam PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali. Kemudian, dilakukan *blocking* dengan ditetesi H₂O₂ 3% selama 40 menit, lalu dicuci dengan PBS selama 3 kali 5

menit. Setelah itu, direndam ke dalam 5% FBS (*Fetal Bovine Serum*) dalam PBS selama 24 jam suhu 4°C, dan dicuci kembali dalam PBS selama 5 menit sebanyak 3 kali. Preparat kemudian diinkubasi dengan antibodi primer *anti rat* TGF- β selama 24 jam dengan suhu 4°C dan dilakukan pencucian dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali. Tahap berikutnya yaitu diinkubasi dengan antibodi sekunder *anti rabbit* igG selama 1 jam dengan suhu ruang. Slide dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali.

Slide preparat ditetesi dengan *Strep Avidin Horse Radish Peroxidase* (SA-HRP) selama 40 menit. Kemudian dicuci slide dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 1 kali, dan dilanjutkan dengan aquades sebanyak 2 kali masing-masing selama 5 menit. Slide kemudian ditetesi dengan *Diamanobenxidine* (DAB) selama 40 menit. Slide dicuci dengan aquades selama 5 menit sebanyak 3 kali. Kemudian slide *diconterstaining* menggunakan *Mayer Hematoxylin* selama 3 menit. Slide kemudian dibilas menggunakan akuades, dimana selanjutnya dikeringkan. Slide *dimounting* dengan entellan dan ditutup dengan *cover glass*.

4.4.9 Pengamatan Ekspresi TGF- β

Pengamatan ekspresi TGF- β dilakukan menggunakan mikroskop perbesaran 400x dengan lima bidang pandang pengamatan yang berbeda (Purwanto dkk., 2011). Hasil foto mikroskop kemudian diproses dengan *Software Immunoratio* untuk mengamati peningkatan

ekspresi TGF- β yang ditandai dengan peningkatan presentasi luas daerah yang terwarnai.

4.4.10 Penghitungan Jumlah Fibroblast

Jumlah fibroblast dihitung dengan melihat lima bidang lapang pandang. Perhitungan jumlah fibroblast dilakukan dengan menggunakan mikroskop Olympus (BX51) perbesaran 400x dan dengan menggunakan program ImageRaster® dengan perbesaran foto 400x. Gambaran fibroblast berupa sel berbentuk elips dan berinti ungu serta berwarna ungu pucat. Hasil pengamatan dan perhitungan rata-rata jumlah fibroblast dari lima lapang pandang pada setiap sediaan mikroskopis kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol dan perlakuan (Dewi, 2018).

4.5 Analisa Data

Data penelitian berupa data kuantitatif ekspresi TGF- β dan jumlah rata-rata fibroblast. Ekspresi TGF- β berupa data kuantitatif yang didapatkan dari *Software Immunoratio*. Data kuantitatif dari rata-rata ekspresi TGF- β dan rata-rata jumlah fibroblast kemudian dianalisa dengan *Software SPSS 22* dengan uji homogenitas untuk mengetahui keseragaman varian data. Apabila data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji *one way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan rata-rata antar kelompok perlakuan atau perbedaan secara keseluruhan atau kelompok perlakuan. Hasil uji *one way ANOVA* menunjukkan hasil signifikan ($p < 0,05$), dapat dilanjutkan uji Tukey (Beda Nyata Jujur) sebagai uji lanjutan dengan $\alpha = 0,05$ (Kusriningrum, 2008).

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Gambaran Makroskopis Hasil Terapi Lemak Cair Omentum Sapi dan Salep Konvensional terhadap Luka Bakar Derajat III Tikus (*Rattus norvegicus*)

Kulit punggung tikus diinduksi luka bakar derajat III dengan cara menempelkan plat logam dengan diameter 24 mm yang telah dibakar diatas pembakar bunsen selama 4 detik menunjukkan gambaran makroskopis kulit yang dapat dilihat pada **Gambar 5.1** dimana terlihat kulit berwarna kehitaman nekrotik serta dijumpai eskar berwarna putih yang merupakan hasil koagulasi protein pada kulit. Permukaan luka terlihat kering dan tidak ditemukan bulla (Anggowarsito, 2014).



Gambar 5.1 Gambaran luka bakar derajat III pasca induksi (Dokumentasi pribadi)

Luka bakar kemudian diterapi dengan salep konvensional berisi ekstrak plasenta 10% dan antibiotik *neomicyn sulfate* sebagai kontrol positif, serta pemberian lemak cair omentum sapi sebagai kelompok perlakuan menunjukkan gambaran makroskopis yang cukup berbeda pada hari ke-15 perlakuan, seperti terlihat pada **Gambar 5.2**. Keropeng masih ditemukan pada kedua kelompok perlakuan, namun pada kelompok terapi salep konven-

sional keropeng masih terlihat tebal dibandingkan pada kelompok terapi lemak cair omentum sapi yang telah mengecil. Luas luka yang terukur pada kelompok terapi salep konvensional juga lebih lebih lebar dibandingkan dengan luas luka pada kelompok terapi lemak cair omentum sapi dimana pinggiran luka sudah mulai menyempit, hal ini dapat dilihat pada **Lampiran 6** dimana adanya perbedaan luas luka yang sangat signifikan antar kelompok. Luka pada kelompok terapi salep konvensional terlihat masih mengalami kemerahan menunjukkan bahwa pada kelompok terapi ini luka masih belum sempurna memasuki fase proliferasi ditandai masih adanya kemerahan pada luka, sedangkan kelompok terapi lemak cair omentum sapi terlihat mengering tanpa adanya tanda-tanda inflamasi seperti kemerahan pada kulit.



Gambar 5.2 Gambaran makroskopis luka bakar setelah diterapi pada hari ke-15 (Dokumentasi pribadi)

Keterangan : (A) Kelompok terapi salep konvensional, keropeng terlihat masih menempel pada luka, dan luas luka masih lebar
(B) Kelompok terapi lemak cair omentum sapi, keropeng sudah tidak ditemukan dan luka telah mengalami penyusutan yang signifikan

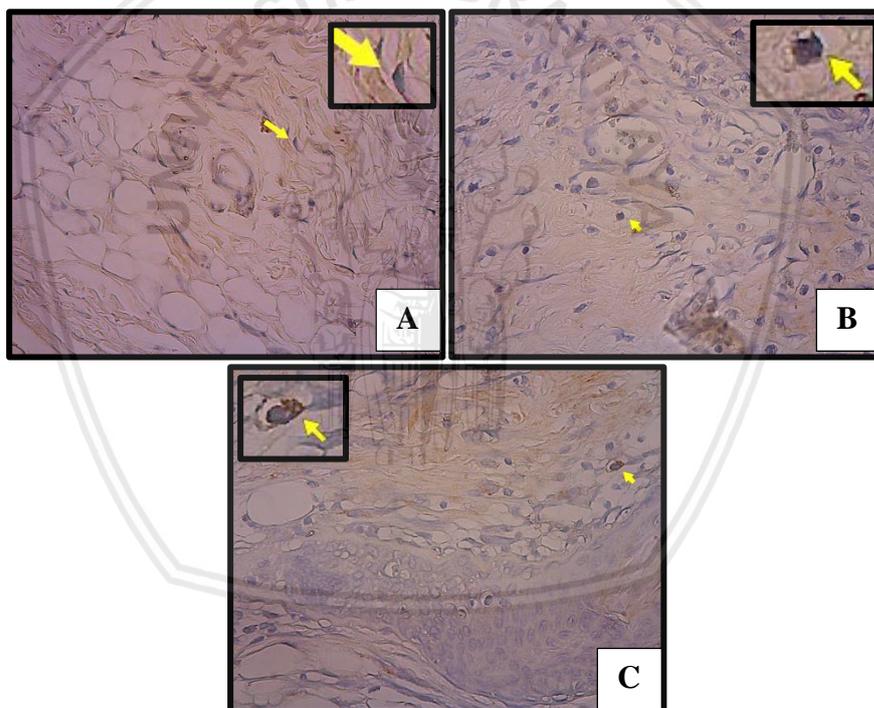
Sampel kulit dengan luka bakar yang telah diterapi kemudian di preparasi dan dilakukan pewarnaan histologi dengan metode *Hematoxylin Eosin* (HE) untuk melihat jumlah fibroblast, serta pewarnaan dengan metode

Immunohistokimia untuk melihat ekspresi TGF- β yang bertujuan mengetahui pengaruh terapi yang telah diberikan.

5.2 Pengaruh Pemberian Lemak Cair Omentum Sapi terhadap Ekspresi TGF- β pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Luka Bakar Derajat III

Ekspresi TGF- β pada kulit tikus yang diinduksi luka bakar derajat III dan diterapi dengan lemak cair omentum sapi diamati dengan metode immunohistokimia. Adanya ekspresi yang terlihat ditunjukkan dengan warna kecoklatan pada sitoplasma sel fibroblast dan makrofag yang terlihat pada

Gambar 5.3.



Gambar 5.3. Ekspresi TGF- β pada kulit Tikus hari ke-15 dengan pewarnaan Immunohistokimia (perbesaran 400x)

Keterangan: (A) Kontrol negatif. (B) Kontrol positif. (C) Terapi lemak cair omentum sapi. Adanya ekspresi TGF- β pada sel terlihat dari adanya pembentukan warna kecoklatan pada sel (ditunjukkan dengan panah)

Adanya ekspresi TGF- β pada perlakuan ditandai dengan terbentuknya warna kecoklatan pada sitoplasma sel fibroblast dan makrofag di lapisan

dermis pada kulit. Menurut Susanto dkk (2010), hal ini disebabkan oleh interaksi antara antibodi yang ditambahkan dengan TGF- β pada jaringan kulit. Adanya interaksi ini menyebabkan terbentuknya ikatan kompleks antigen-antibodi yang kemudian dikenali oleh SA-HRP (*Strep Avidin-Horse Radish Peroxidase*) dan terwanai oleh substrat kromagen DAB (*Diaminobenzidine*) sehingga tervisualisasi menjadi warna kecoklatan.

Data rata-rata ekspresi TGF- β dari masing-masing kelompok dapat dilihat pada **Tabel 5.1**.

Tabel 5.1. Rata-rata ekspresi TGF- β

Perlakuan	Rata-Rata Area Ekspresi TGF- β \pm SD (%)
KN (Kontrol Negatif)	20,85 \pm 3,10 ^a
KP (Terapi Salep Konvensional)	28,40 \pm 2,94 ^a
P1 (Terapi Lemak Cair Omentum Sapi)	44,01 \pm 13,31 ^b

Keterangan: Terdapat perbedaan tidak signifikan pada kelompok KN dan KP ($P > 0,05$), dan perbedaan signifikan antara KN dan KP dengan notasi a terhadap notasi b pada P1 ($P < 0,05$)

Hasil analisa data statistika (**Tabel 5.1**) bahwa terapi lemak cair omentum sapi menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) yang ditunjukkan dengan notasi yang berbeda. Terapi lemak cair omentum sapi menunjukkan peningkatan terhadap ekspresi TGF- β yang lebih besar dibanding terapi salep konvensional. Hal ini disebabkan karena lemak cair omentum sapi mengandung asam laurat dan asam oleat yang membantu meningkatkan aktivitas dari TGF- β yang berfungsi dalam regulasi sel serta meningkatkan proliferasi fibroblast dalam fase proliferasi pada proses penyembuhan luka (Agero and Verallo, 2004; Mora dkk., 2013).

Berdasarkan analisa pada **Tabel 5.1**, diketahui pada kelompok KN (Kontrol Negatif) yang tidak diberikan perlakuan luka bakar dan terapi

menunjukkan nilai rata-rata ekspresi sebesar $20,85 \pm 3,10\%$. Hal ini menunjukkan bahwa *growth factor* ini diekspresikan dalam kondisi kulit normal. Angka rata-rata yang didapatkan pada kelompok kontrol negatif digunakan sebagai standar untuk mengetahui adanya peningkatan atau penurunan ekspresi TGF- β pada kelompok lainnya. Pada kulit normal TGF- β memiliki peran dalam menjaga homeostasis jaringan dengan meregulasi pertumbuhan dan diferensiasi sel. Pada kondisi fisiologis dimana sel mengalami apoptosis, *growth factor* berperan dalam meregulasi sel yang mati (Guanqun *et al.*, 2005).

Pada kelompok KP yaitu tikus yang diterapi dengan salep konvensional berisi ekstrak plasenta dan antibiotik *neomicyn sulfate* menunjukkan rata-rata ekspresi TGF- β sebesar $28,40 \pm 2,94\%$ (**Tabel 5.1**). Ekspresi TGF- β mengalami peningkatan daripada kelompok KN disebabkan adanya respon perbaikan jaringan akibat luka bakar, serta adanya kandungan ekstrak plasenta dalam salep konvensional yang meningkatkan regenerasi jaringan dengan meningkatkan *growth factor* dalam proses penyembuhan luka. Ekstrak plasenta yang terkandung dalam sediaan salep ini bekerja dengan membentuk jaringan baru dengan meningkatkan TGF- β dan VEGF sehingga dapat menstimulasi regenerasi sel (Gupta *et al.*, 2016). Sedangkan kandungan antibiotik *neomicyn sulfate* yang merupakan golongan aminoglikosida bekerja dengan mengikat sub-unit 30s ribosom bakteri sehingga menghambat pertumbuhan bakteri (Koch *et al.*, 2012).

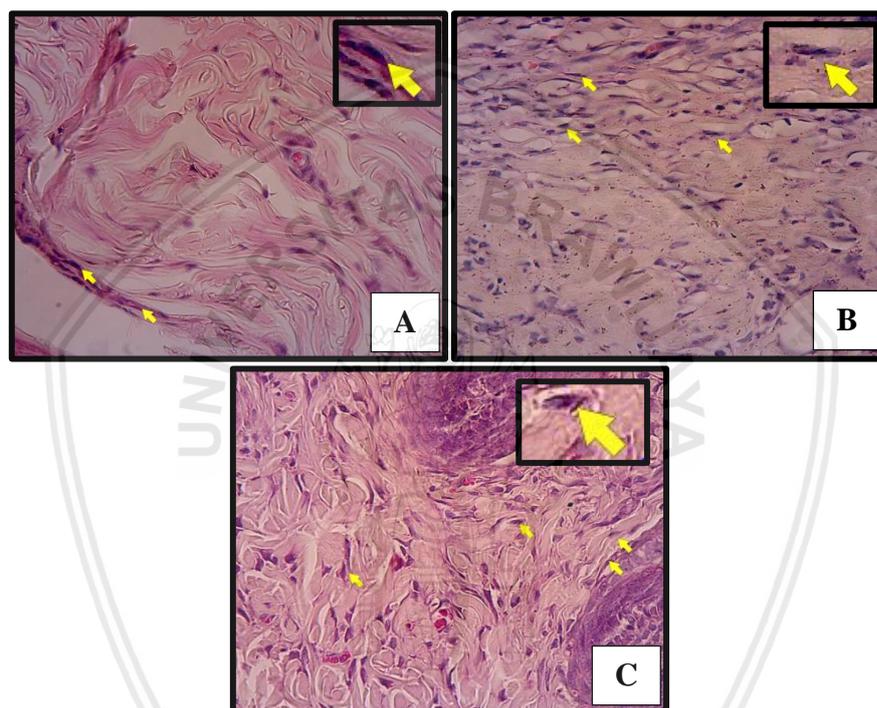
Kelompok P1 yaitu tikus yang terapi dengan lemak cair omentum sapi menunjukkan nilai rata-rata ekspresi TGF- β paling tinggi, yaitu sebesar

44,01±13,31% (**Tabel 5.1**). Kelompok P1 (terapi lemak cair omentum) menunjukkan peningkatan signifikan dibandingkan dengan kelompok KN dan KP (terapi salep konvensional), menunjukkan bahwa kelompok P1 (terapi lemak cair omentum) memiliki pengaruh yang lebih baik dalam meningkatkan ekspresi TGF- β dibandingkan dengan kelompok KP (terapi salep konvensional). Hal ini disebabkan adanya kandungan asam laurat pada lemak cair omentum sapi. Menurut Setiaji dan Prayugo (2006), asam laurat merupakan asam yang mudah menyerap ke dalam sel, sehingga meningkatkan metabolisme sel yang berpengaruh pada kerja sel yang lebih efisien dalam regenerasi sel-sel yang rusak oleh aktifitas *growth factor*. Hal ini didukung oleh Agero and Verallo (2004), yang menyatakan kandungan asam laurat merangsang aktifitas TGF- β untuk menstimulasi dalam pembentukan benang fibrin yang berfungsi untuk kerangka reepitelisasi dan proliferasi fibroblast. Gumpalan fibrin yang cepat terbentuk menyebabkan fibroblast segera berproliferasi sehingga secara otomatis terjadi peningkatan fibroblast. Suasana *moist* yang disebabkan oleh asam oleat juga ikut membantu dalam peningkatan aktivitas TGF- β .

Berdasarkan hasil rata-rata TGF- β yang dianalisa dengan perhitungan statistika (**Lampiran 8**), dapat disimpulkan bahwa terapi lemak cair omentum sapi memiliki efek yang paling efektif untuk meningkatkan jumlah rata-rata TGF- β yang berfungsi dalam regenerasi jaringan dan meningkatkan jumlah sel fibroblast dalam fase proliferasi pada penyembuhan luka.

5.3 Pengaruh Pemberian Lemak Cair Omentum Sapi terhadap Jumlah Fibroblast pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Luka Bakar Derajat III

Hasil penelitian pengaruh pemberian lemak cair omentum sapi terhadap jumlah fibroblast dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) dapat dilihat pada **Gambar 5.3**. Sel fibroblast secara mikroskopis terlihat memiliki inti elips yang terwarnai ungu serta tersebar di jaringan ikat dermis.



Gambar 5.4. Gambaran mikroskopis sel fibroblast pada kulit Tikus hari ke-15 dengan pewarnaan HE (perbesaran 400x)

Keterangan: (A) Kontrol negatif. (B) Kontrol positif. (C) Terapi lemak cair omentum sapi

Jumlah sel fibroblast dihitung pada setiap ulangan kelompok dengan masing-masing lima lapang pandang dengan menggunakan mikroskop Olympus (BX51) perbesaran 400x dilanjutkan dengan program ImageRaster®. Data yang diperoleh dianalisa secara statistik menggunakan *software* SPSS metode *one way* ANOVA yang kemudian dilanjutkan uji Tukey dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil perhitungan rata-rata jumlah sel fibroblast dapat dilihat pada **Tabel 5.2**.

Tabel 5.2. Rata-rata jumlah sel fibroblast

Perlakuan	Rata-Rata Jumlah Fibroblast ± SD (Sel/Lapang Pandang)
KN (Kontrol Negatif)	21,70 ± 1,90 ^a
KP (Terapi Salep Konvensional)	40,70 ± 6,91 ^b
P1 (Terapi Lemak Cair Omentum Sapi)	70,77 ± 15,25 ^c

Keterangan: Perbedaan notasi a, b, c menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok perlakuan.

Berdasarkan **Tabel 5.2**, jumlah rata-rata sel fibroblast pada semua kelompok perlakuan yaitu kelompok KN $21,70 \pm 1,90$ sel/lapang pandang, KP (terapi salep konvensional) $40,70 \pm 6,91$ sel/lapang pandang dan P1 (terapi lemak cair omentum) $70,77 \pm 15,25$ sel/lapang pandang, menunjukkan adanya perbedaan notasi yang berarti adanya perbedaan nyata dan signifikan antar kelompok. Terlihat kenaikan jumlah rata-rata sel fibroblast pada kelompok KP (terapi salep konvensional) dan P1 (terapi lemak cair omentum), namun kelompok P1 (terapi lemak cair omentum) memiliki kenaikan yang lebih tinggi dan jauh berbeda dengan kelompok lainnya.

Hasil pengamatan pada kelompok KN seperti terlihat **Gambar 5.2 A**, sel fibroblast tersebar di jaringan kulit normal dengan jumlah yang relatif sedikit. Hasil perhitungan dan uji dengan statistika didapatkan bahwa nilai rata-rata jumlah fibroblast pada kontrol negatif adalah $21,70 \pm 1,90$ sel/lapang pandang yang digunakan sebagai standar pada jaringan normal dan untuk mengetahui adanya peningkatan atau penurunan jumlah akibat perlakuan. Jumlah fibroblast pada jaringan kulit normal tidak banyak karena tidak adanya kerusakan jaringan ikat atau adanya respon perbaikan jaringan akibat trauma atau luka, sehingga jumlah fibroblast tidak meningkat. Pada kulit yang normal, fibroblast memiliki fungsi dalam mensintesis substansi matriks

ekstraseluler, seperti kolagen dan elastin yang memiliki peran untuk mempertahankan bentuk organ dan jaringan (Mescher, 2010).

Kelompok KP atau kelompok dengan terapi salep konvensional berisi ekstrak plasenta dan antibiotik *neomicyn sulfate* seperti pada **Gambar 5.4 B** menunjukkan peningkatan jumlah fibroblast di jaringan dermis dengan rata-rata jumlah sebesar $40,70 \pm 6,91$ sel/lapang pandang (**Tabel 5.2**). Hasil ini menunjukkan adanya perbedaan nyata dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dimana terlihat adanya perbedaan notasi. Adanya peningkatan ini disebabkan oleh respon perbaikan jaringan pada tubuh dan efek dari salep konvensional berisi ekstrak plasenta dan antibiotik *neomicyn sulfate*. Kandungan antibiotik *neomicyn sulfate* yang bekerja menghambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak terjadi infeksi pada luka (Koch *et al.*, 2012). Adanya kandungan ekstrak plasenta dalam salep konvensional merangsang regenerasi sel dengan meningkatkan *growth factor* seperti TGF- β dan VEGF. Peningkatan TGF- β yang berfungsi dalam meningkatkan proliferasi fibroblast, juga otomatis akan meningkatkan jumlah fibroblast dalam kesembuhan luka (Gupta *et al.*, 2016).

Kelompok P1 atau kelompok dengan terapi lemak cair omentum sapi menunjukkan banyaknya pertumbuhan sel fibroblast (**Gambar 5.4 C**), dengan jumlah rata-rata sel sebesar $70,77 \pm 15,25$ sel/lapang pandang (**Tabel 5.2**). Nilai rata-rata fibroblast pada kelompok terapi lemak cair omentum sapi memiliki angka paling tinggi dibandingkan dengan kelompok KN (kontrol negatif) dan KP (terapi salep konvensional), juga menunjukkan perbedaan nyata dan signifikan. Hal ini disebabkan adanya kandungan asam laurat pada

lemak cair omentum sapi yang membantu dalam meningkatkan TGF- β yang selanjutnya akan berpengaruh dalam peningkatan proliferasi fibroblast pada fase proliferasi dalam penyembuhan luka. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya aktivitas TGF- β akibat kandungan asam laurat serta suasana *moist* oleh asam oleat pada lemak cair omentum sapi. TGF- β akan menstimulasi pembentukan gumpalan fibrin yang menjadi kerangka re-epitelisasi dan proliferasi fibroblast. Gumpalan fibrin yang cepat terbentuk akan menyebabkan fibroblast segera berproliferasi sehingga secara otomatis terjadi peningkatan fibroblast. (Agero *and* Verallo, 2004; Moradk., 2013; Field, 1994). Peningkatan *growth factor* ini berpengaruh dalam peningkatan proliferasi fibroblast. Selanjutnya EPA dan DHA akan membantu fibroblast dalam mensintesis kolagen sehingga waktu penyembuhan luka dapat semakin cepat dan singkat (Hankenson *et al.*, 2000).

Berdasarkan hasil analisa jumlah fibroblast yang telah diuji secara statistika, kelompok P1 (terapi lemak cair omentum) merupakan terapi yang paling efektif dalam meningkatkan jumlah rata-rata sel fibroblast serta ekspresi TGF- β dibandingkan kelompok KN dan KP (terapi salep konvensional), didukung dengan analisa statistika pada **Lampiran 10**. Nilai rata-rata sel fibroblast dan TGF- β pada P1 (terapi lemak cair omentum) memiliki angka paling tinggi serta memiliki perbedaan signifikan dibanding kelompok lain, ditandai perbedaan pada notasi. Meningkatnya ekspresi TGF- β akan meningkatkan jumlah fibroblast pada fase proliferasi yang menandakan proses penyembuhan luka yang lebih baik. Fibroblast memiliki fungsi dalam menghasilkan kolagen dan myofibroblast yang akan membantu

dalam menautkan dan kontraksi luka. Hal ini dapat dilihat pula dari gambaran makroskopis pada luka yang mengecil dibandingkan dengan kelompok perlakuan KP (terapi salep konvensional). Hasil dari penelitian ini juga membuktikan bahwa pemberian lemak cair omentum sapi pada luka bakar derajat III memiliki efek dalam meningkatkan rata-rata TGF- β dan jumlah sel fibroblast pada hari ke-15, dimana fase proliferasi memiliki rentang waktu pada hari ke-4 hingga hari ke-21 pasca terjadinya luka.



BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan di atas, dapat disimpulkan :

1. Terapi lemak cair omentum sapi dapat meningkatkan ekspresi TGF- β pada penyembuhan luka bakar derajat III tikus (*Rattus norvegicus*) dibandingkan dengan salep konvensional berisi ekstrak plasenta dan antibiotik *neomicyn sulfate*.
2. Terapi lemak cair omentum sapi dapat meningkatkan jumlah fibroblast dalam proses penyembuhan luka bakar derajat III tikus (*Rattus norvegicus*) dibandingkan dengan salep konvensional berisi ekstrak plasenta dan antibiotik *neomicyn sulfate*.

6.2 Saran

Saran yang dapat diberikan peneliti, yaitu diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan lemak cair omentum sapi sebagai alternatif pengobatan luka bakar, sehingga dapat digunakan dalam kehidupan masyarakat.

DAFTAR PUSTAKA

- Agero A. L. and Verallo R. V. M. 2004. A Randomized Double-Blind Controlled Trial Comparing Extra Virgin Oil as A Moisturizer for Mild to Moderate Xerosis. Dalam: Tamara, A. H., Y. S. Rochmah, R. Mujayanto. 2014. Pengaruh Aplikasi Virgin Coconut Oil terhadap Peningkatan Jumlah Fibroblas pada Luka Pasca Pencabutan Gigi pada *Rattus norvegicus*. *ODONTO: Dental Journal*, 1(2) : 29-34.
- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Adabia Press, Jakarta. 4-5.
- Alexandru, Iliuta. 2011. Experimental Use of Animal in Reasearch Spa. *Balneo-Research Journal*. Vol. 2, No. 1. <http://bioclima.ro/J225eng.pdf>. [21 Oktober 2018].
- Anderson, J. M. 2000. The Cellular Cascades of Wound Healing. In J. E. Davies (Ed.), *Bone Engineering. Em squared inc*, Toronto. 81–93.
- Anggowarsito, J. L. 2014. Luka Bakar Sudut Pandang Dermatologi. *Jurnal Widya Medika Surabaya Vol.2 No.2*. 155-120.
- Ariyadi, T., dan H. Suryono. 2017. Kualitas Sediaan Jaringan Kulit Metode Microwave dan *Conventional Heat Processing* Pewarnaan Hematoksilin Eosin. *Jurnal Labora Medika Vol. 1 No. 1*. 7-11.
- Bacha, W. J., and L. M. Bacha. 2012. *Color Atlas of Veterinary Histologi*. Third Edition. John Willey & Sons, Ltd., Oxford.
- Barbara, A. B., G. Glen, and S. Marjorie. 20013. *Willard and Spackman's Occupational Therapy. Edisi ke-12*. Wolters Kluwer Health, Philadephia.
- Branton, M. H. and J. B. Koop. 1999. TGF- β and Fibrosis. *Microbes and Infection*. 1349-1365.
- Breit, S. N., and S. M. Wahl. 2001. *TGF- β and Related Cytokines in Inflammation*. Springer Basel AG, Switzerland.
- Brunner and Suddarth. 2002. *Buku Ajar Keperawatan Medikal Bedah*. EGC, Jakarta.
- Charles , N. S. 2007. Resolution Phase of Inflammation: Novel Endogenous Anti Inflammatory and Proresolving Lipid Mediators and Pathway. *Annu Rev Immunol* 25. 101–137.
- Chu, D. H. 2013. Overview of Biology, Development, and Structure of the Skin. In: *Wolf KW, et al. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 8th Edition. Mc Graw Hill Medical. 58-75
- Da Cunha, M. E., L. C. Krause, M. S. A. Moraes, S. C. Faccini, R. A. Jacques, S. R. Almeida, M. R. A. Rodrigues, and E. B. Camarao. 2009. Beef Tallow Biodiesel Produced in a Pilot Scale. *Fuel Processing Technology* (90). 570–575.

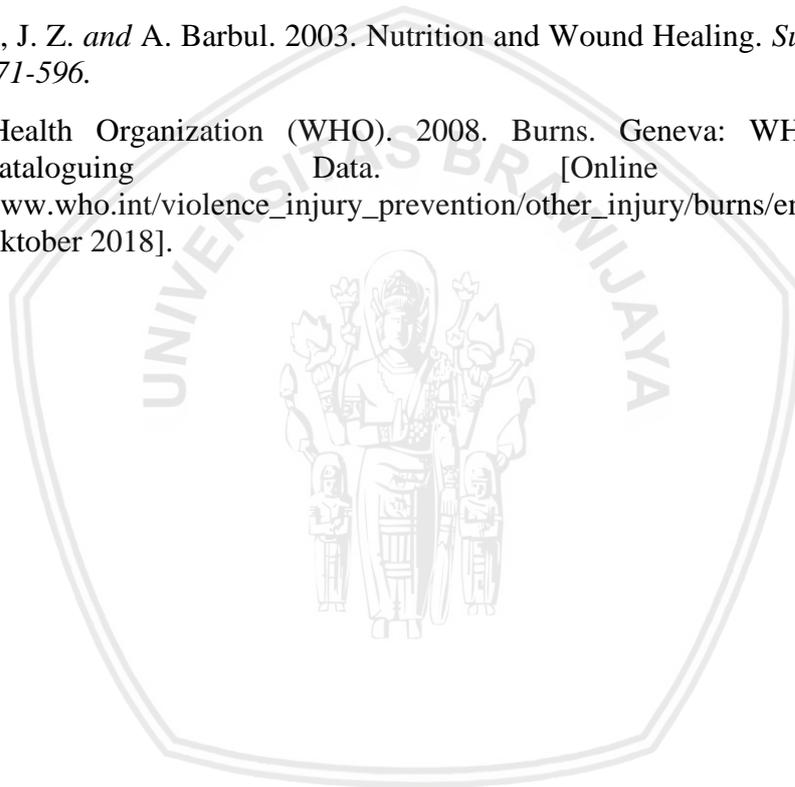


- Daley, C. A., A. Abbott, P. S. Doyle, G. A. Nader, and S. Larson. 2010. A Review of Fatty Acid Profiles and Antioxidant Content in Grass-Fed and Grain-Fed Beef. *Nutr J.* 9-10.
- Dewi, P. S. 2018. Efektifitas Ekstrak Lidah Buaya terhadap Jumlah Sel Fibroblast pada Proses Penyembuhan Luka Incisi Marmut. *Intisari Sains Medis 2018*; 9(3): 51-54.
- Eggermont, J. J. 2012. *The Neuroscience of Tinnitus*. Oxford University press, UK. 74-75.
- Faler, B. J., Mascata R. A., and D. Plummer. 2006. Transforming Growth Factor- β and Wound Healing. *Perspective in Vascular Surgery and Endovascular Therapy*, 18(1): 55-57.
- Fauziyah, K. R. 2016. Profil Tekanan Darah Normal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar dan Sprague Dawley. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor.
- Fawcett, D. W. 2002. *Buku Ajar Histologi Edisi 12*. EGC, Jakarta.
- Ferreira, M.C., P. Tuma, V. F. Carvalho, and F. Kamamoto. 2006. Complex Wounds. *Clinics*. 571-578.
- Field, C. 1994. Overview of Wound Healing in a Moist Environment. *Am J Surg* p: 167:2.
- Ginting, S.P, dan F. Mahmilia. 2008. Kambing “Boerka” Kambing Tipe Pedaging Hasil Persilangan Boer dan Kacang. *Wartazoa Vol 18 No.3*.
- Guanqun, A., S. Lu, G. Han, M. K. Martin, and X. J. Wang. 2005. Current View of the Role of Transforming Growth Factor β 1 in Skin Carcinogenesis. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceeding*. 10(2): 110.
- Gupta, V., A. Sinha, Jithendra, S. S. Chauhan and S. Singh. 2016. Placenta Extract the Magical Wound Healer, Next Milestone in the Healing Periodontal Surgery. *Journal of Dental and Medical Sciences*, pp 73-79.
- Gurtner, G.C. 2007. *Wound Healing, Normal and Abnormal*. In: *Grabb and Smith's Plastic Surgery 6th edition*. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. p:15-22.
- Hankenson, K. D., B. A. Watkins, I. A. Schoenlein, K. G. Allen, and J. J. Turek. 2000. Omega-3 Fatty Acids Enhance Ligament Fibroblast Collagen Formation in Association with Changes in Interleukin-6 Production. *Proc Soc Exp Biol Med* 223(1). 88-95.
- Hettiaratchy, S., and Dziewulski, P. 2004. ABC of burns. The first in a series of 12 articles. *BMJ*. 328, 1366.
- Jusuf, A. A. 2009. *Histoteknik Dasar*. Bagian Histologi Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia, Jakarta.

- Juwita, Harlystiarini, 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.ac.id. Vol 1. No 2.*
- Kartikaningtyas, A. T., Prayitno, dan S. P. Lastiany. 2015. Pengaruh Aplikasi Gel Ekstrak Kulit Citrus Sinensis Terhadap Epitelisasi pada Penyembuhan Luka Gingiva Tikus Sprague Dawley. *Jurnal Kedokteran Gigi Indonesia 1(1): 86-93.*
- Klein, M.B. 2007. Thermal, Chemical, and Electrical Injuries. In: Thorne CH, Beasley, R.W., Aston, S.J., Bartlett, S.P., Gurtner, G.C., Spear, S.L. (Eds). *Grabb and Smith's Plastic Surgery. 6th ed.* Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. 132-149.
- Koch, N. S., Sheila, F. T. and D. C. Plumb. 2012. *Canine and Feline Dermatology Drug Handbook.* Wiley Blackwell, USA.
- Kusriningrum, 2008. Perancangan Percobaan. Airlangga University Press, Surabaya. 3-15.
- Lifshitz, V., and D. Frenkel. 2013. *Handbook of Biologically Active Peptides (Second Edition).* Elsevier. 1647-1653.
- Mescher, A. L. 2010. *Junquiera's Basic Histology. Twelfth Edition.* The McGraw-Hill Companies, Inc., USA. 96-98.
- Moenadjat, Y. 2005. *Resusitasi: Dasar-Dasar Manajemen Luka Bakar Fase Akut.* Komite medik asosiasi luka bakar Indonesia, Jakarta. hal.5-20, 54-60.
- Mora, E., Emrizal, dan N. Selpas. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Asam Oleat dari Kulit Buah Kelapa Sawit (*Elais guinensis Jacq.*). *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia 1(2).* 47-51.
- Muntiha, M. 2001. Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (HE). Temu Teknis Fungsional Non Peneliti.
- Murhadi, H. R. A. Mulyani, dan Marniza. 2009. Ekstraksi dan Identifikasi Asam Lemak Biji Mengkudu (*Morinda citrofolia L.*). Prosiding Seminar Nasional Tentang Agroindustri dan Diseminasi Hasil-Hasil Penelitian. 224-232.
- Nisanci M., M. Eski, I. Sahin, S. Ilgan, and S. Isik . 2010. Saving the Zone of Stasis in Burns with Activated Protein C. *An Experimental Study in Rats. Burns.* 397-402.
- Nursanyoto, H. 1993. *Zat Gizi Utama.* PT. Golden Terayon Press, Jakarta.
- Oktaviana, D., Zuprizal, dan E. Suryanto. 2010. Pengaruh Penambahan Ampas Virgin Coconut Oil dalam Ransum terhadap Performans dan Produksi Karkas Ayam Broiler. *Buletin Peternak.* 34:159-164.

- Omar, M.N., N. S. Ahlam, Yusoff, N. A. Zainuddin, dan K. Yunus. 2010. Fatty Acids from Malaysian Giant Snakehead (*Channa micropeltes*) Fish Oil. *Orient J Chem* 26(1). 1-4.
- Perdanakusuma, D. S. 2007. *Anatomi Fisiologi Kulit Dan Penyembuhan Luka*. Plastic Surgery Departement, Airlangga University School of Medicine, Surabaya. hal: 3.
- Pratiwi, H. C., dan A. Manan. 2015. Teknik Dasar Histologi pada Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* Vol. 7 No. 2. 153-158.
- Price, Lorraine, and Wilson. 2005. *Patofisiologi Konsep-Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Volume 2 Edisi 6. EGC, Jakarta.
- Purnama, H., Sriwidodo, dan S. Ratnawulan. 2017. Review Sistematis: Proses Penyembuhan dan Perawatan Luka. *Farmaka Suplemen* Volume 15 (2). 251-258.
- Purnawijayanti. 2001. *Higiene dan Keselamatan Kerja dalam Pengelolaan Makanan*. Kanisius, Yogyakarta.
- Purwanto, B., A. G. Hermawan, R. M. Yogyantoro, dan J. H. Alsagaff. 2011. Kajian Ekspresi TGF- β 1, MMP-9, Kolagen Tipe-I, Kolagen Tipe-IV, Glomerulosklerosis, Interstisial Fibrosis, Albuminuri pada Kejadian Nefrotoksik Doxorubicin dan Nefroprotektif Pentoxifyllin dengan Hewan Coba Mencit Galur Swiss Jantan. *Jurnal Biosains* Vol. 13 (2).
- Redjeki, S. I. 2001. Pengelolaan Nyeri Pascabedah. *1st National Congress Indonesian Pain Society*. 58 – 62.
- Rudall, N., and A. Green. 2010. *Burns Clinical Features and Prognosis*. Clinical Pharmacist. 245-8.
- Setiaji, B., dan S. Prayugo. 2006. *Membuat VCO Berkualitas Tinggi*. Penebar Swadaya, .
- Sharp, P. V. J. 2013. *The Laboratory Rat. Second edition*. CRC Press, Boca Raton.
- Silalahi, J., dan C. Surbakti. 2015. Burn Wound Healing Activity of Hydrolyzed Virgin Coconut Oil. *International Journal of PharmTech Research*, 8(1) : 67-73
- Susanto, H., M. R. Indra, dan S. Karyono. 2010. Pengaruh Sari Seduh The Hitam (*Camelia sinensis*) terhadap Ekspresi ERK $\frac{1}{2}$ PPAR γ pada Jalur MAPK (Mitogen Activated Proteinase) Jaringan Lemak Viseral Tikus Wistar dengan Diet Tinggi Lemak. *J. Exp. Life Sci* 2(2): 89-97.
- Suwiti, N. K. 2010. Deteksi Histologik Kesembuhan Luka pada Kulit Pasca Pemberian Daun Mengkudu (*Morinda Citrifolia* Linn). *Buletin Veteriner Udayana* Vol. 2 No. 1. 1-9.

- Tan, J. Q., H. H. Zhang, Z. J. Lei, P. Ren, C. Deng, and X. Y. Li. 2013. The Roles of Autophagy and Apoptosis in Burn Wound Progression in Rats. *Burns*. 1551–6.
- Tiwari, V. K. 2012. Burn Wound: How it Differs From Other Wounds?. *Indian J Plast Surg*. 45(2): 364–373.
- Tolistiawaty, I., J. Widjaja, P. F. Pamela, Sumolang, dan Octaviani. 2014. Gambaran Kesehatan pada Mencit (*Mus musculus*) di Instalasi Hewan Coba. *Jurnal Vektor Penyakit Vol. 8 No. 1*. 27 – 32.
- Tuminah, S. 2009. Efek Asam Lemak Jenuh dan Asam Lemak tak Jenuh Trans Terhadap Kesehatan. Media Penelitian dan Pengembang Kesehatan Volume XIX Suplemen II.
- Williams, J. Z. and A. Barbul. 2003. Nutrition and Wound Healing. *Surg Clin* 83. 571-596.
- World Health Organization (WHO). 2008. Burns. Geneva: WHO Library Cataloguing Data. [Online Artikel]. www.who.int/violence_injury_prevention/other_injury/burns/en/. [20 Oktober 2018].



LAMPIRAN



Lampiran 1. Surat Laik Etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARANCE"**

No: 928-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

PENELITIAN BERJUDUL : INOVASI PATCHES BALAP (LIMBAH LEMAK
ABDOMEN SAPI POTONG) UNTUK PENGOBATAN
LUKA BAKAR PADA HEWAN MODEL TIKUS WISTAR (
Rattus novegicus)

PENELITI : GUSTI AULIA RAHMAN SURYANINGRAT

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

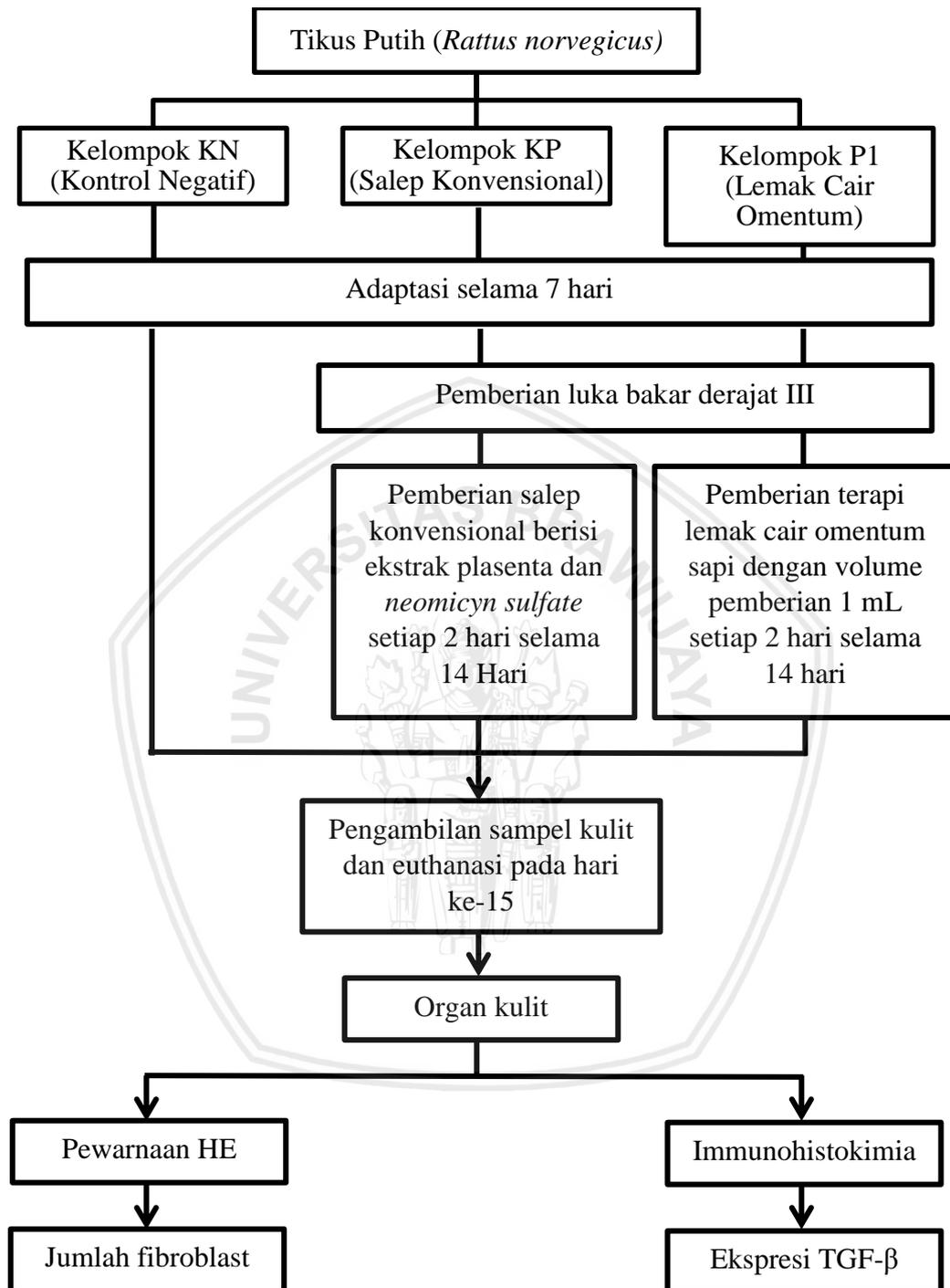
DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 17 April 2018
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya

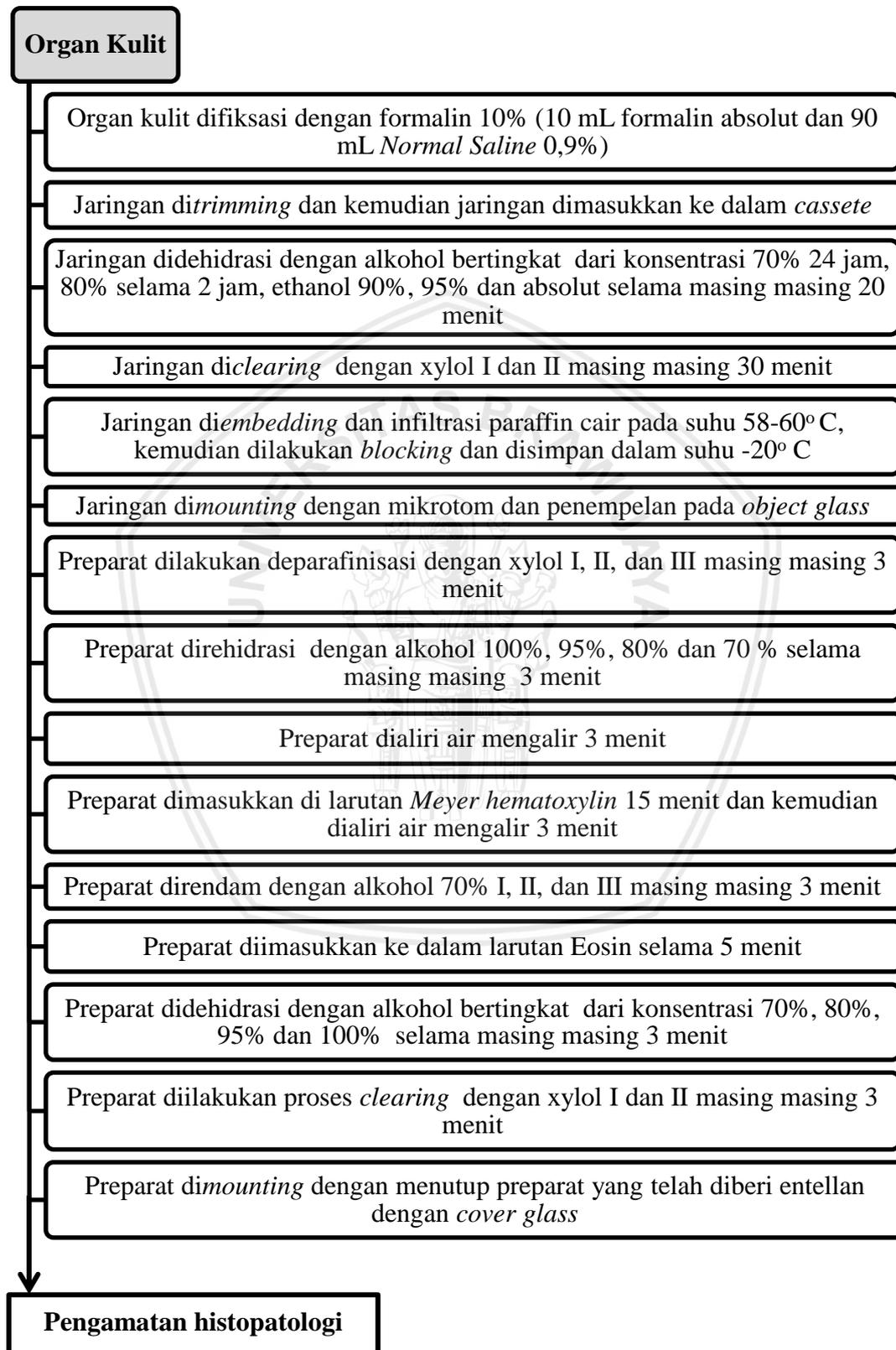


Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

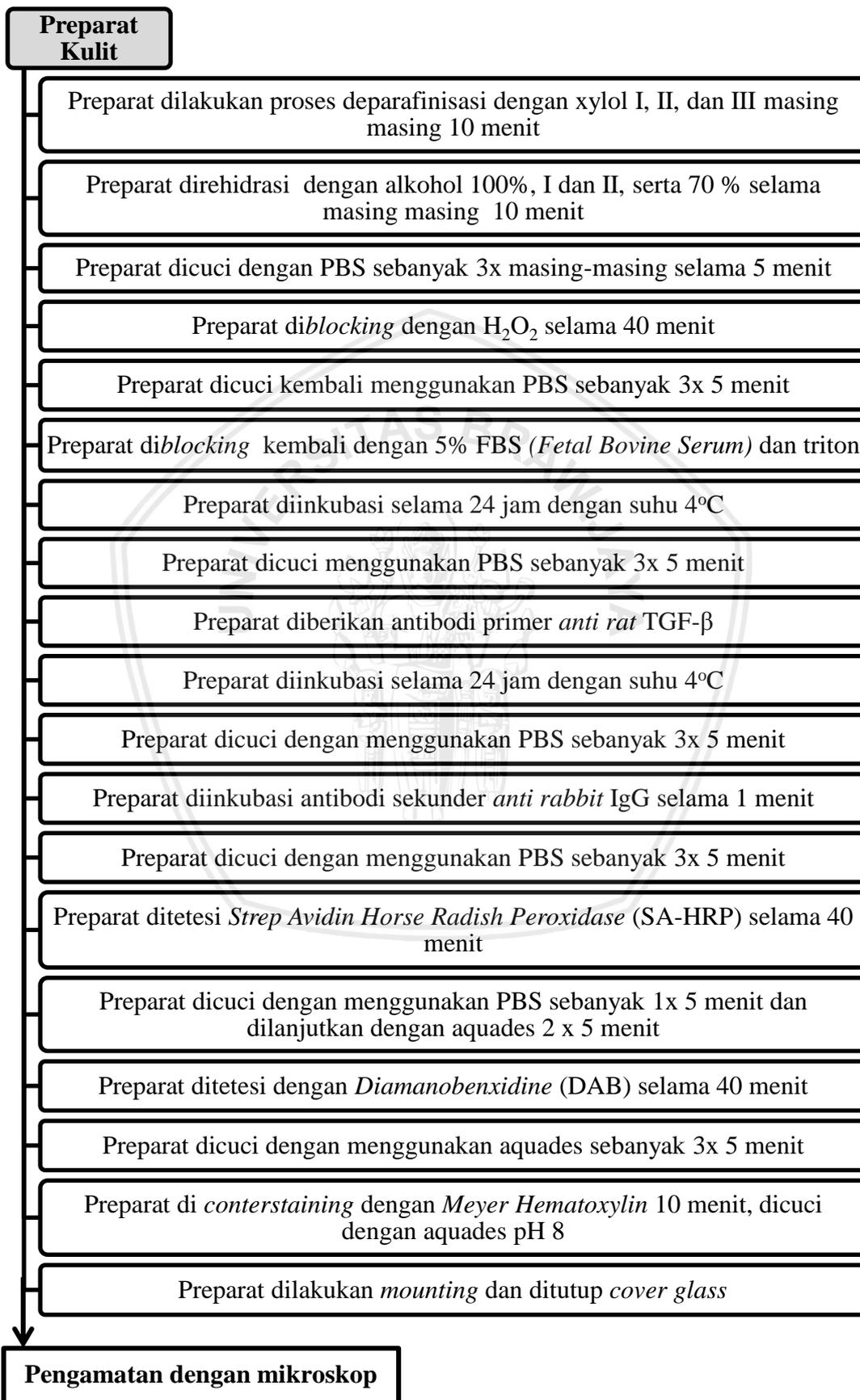
Lampiran 2. Skema Penelitian



Lampiran 3. Pembuatan Preparat Histologis Kulit dengan Pewarnaan HE



Lampiran 4. Pewarnaan Immunohistokimia untuk TGF- β



Lampiran 5. Perhitungan Volume Anestesi**1. Ketamin**

Dosis : 100 mg/kg

Sediaan : 100 mg/mL

BB : 100 gram : 0,1 kg

$$\begin{aligned}\text{Volume Pemberian} &= \frac{\text{Dosis} \times \text{BB}}{\text{Sediaan}} \\ &= \frac{100 \text{ mg/mL} \times 0,1 \text{ kg}}{100 \text{ mg/mL}} \\ &= 0,1 \text{ mL}\end{aligned}$$

2. Xylazin

Dosis : 20 mg/kg

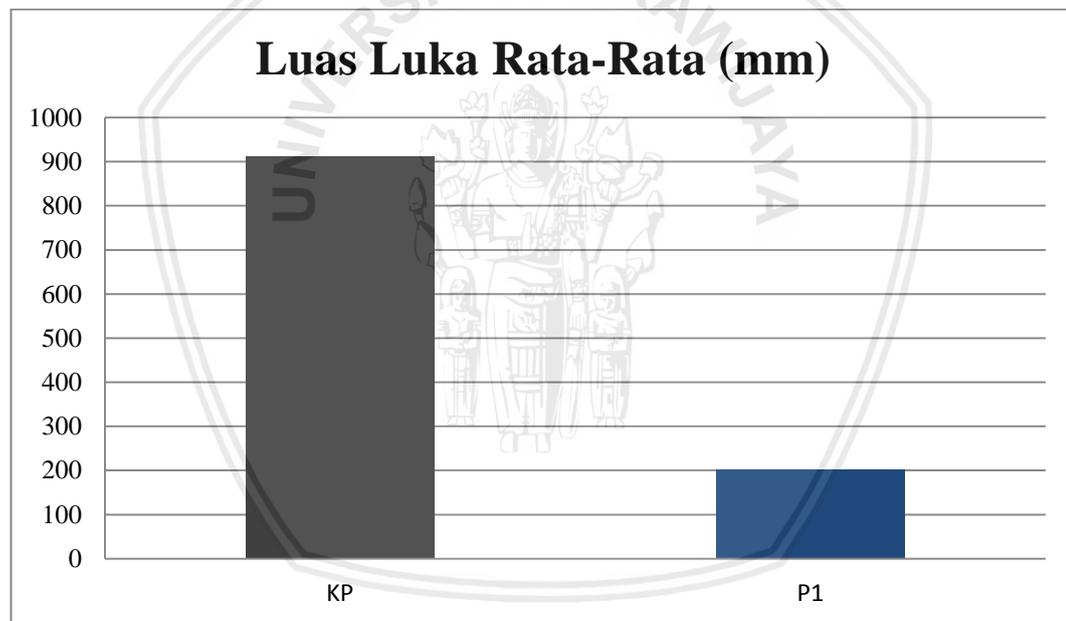
Sediaan : 20 mg/mL

BB : 100 gram : 0,1 kg

$$\begin{aligned}\text{Volume Pemberian} &= \frac{\text{Dosis} \times \text{BB}}{\text{Sediaan}} \\ &= \frac{20 \text{ mg/mL} \times 0,1 \text{ kg}}{20 \text{ mg/mL}} \\ &= 0,1 \text{ mL}\end{aligned}$$

Lampiran 6. Luas Luka Bakar

Perlakuan	Ulangan	X (mm)	Y (mm)	Luas (mm)	Rata-Rata (mm)
KP	Ulangan 1	14,5	10,44	475,7657	912,0421
	Ulangan 2	16,93	15,52	825,797	
	Ulangan 3	23,08	15,55	1127,953	
	Ulangan 4	17,35	19,83	1081,302	
	Ulangan 5	18,75	15,08	888,6429	
	Ulangan 6	23,46	14,55	1072,792	
P1	Ulangan 1	0	0	0	202,2093
	Ulangan 2	0	0	0	
	Ulangan 3	6,67	3,91	81,96477	
	Ulangan 4	5,79	7,54	137,2065	
	Ulangan 5	23,41	6,54	481,1758	
	Ulangan 6	6,26	26,07	512,9086	



Lampiran 7. Data Rata-Rata Ekspresi TGF- β

Perlakuan	Ulangan	Lapang Pandang					Rata-rata	Rata-Rata Kelompok
		L1	L2	L3	L4	L5		
KN	Ulangan 1	18.6	17.5	13.3	17.5	17.4	16.86	20.85
	Ulangan 2	19.6	20.5	23.1	25.4	23.4	22.4	
	Ulangan 3	21.3	18.9	21.1	16	22.1	19.88	
	Ulangan 4	23.9	20.3	19.4	20.9	17.7	20.44	
	Ulangan 5	22.5	40.5	22.4	23.8	20.9	26.02	
	Ulangan 6	22.3	19.2	11.8	19.6	24.6	19.5	
KP	Ulangan 1	24.8	27	22.3	28.3	26.9	25.86	28.39667
	Ulangan 2	32.6	29.8	27.5	26.1	31	29.4	
	Ulangan 3	26.2	33.1	37.8	29.1	38.2	32.88	
	Ulangan 4	21.4	23.5	58.5	42.1	5.3	30.16	
	Ulangan 5	19.7	16.2	28.9	28.5	41.2	26.9	
	Ulangan 6	23.1	25	42.5	13.6	21.7	25.18	
P1	Ulangan 1	56.3	70.9	51.3	67.4	68.1	62.8	44.01333
	Ulangan 2	41.2	32.9	61.9	58	58.5	50.5	
	Ulangan 3	30.8	29.6	36.7	21.9	26	29	
	Ulangan 4	78	38.7	84.2	22.7	41.3	52.98	
	Ulangan 5	31.4	53.6	23.7	30.8	29.7	33.84	
	Ulangan 6	28.8	31.1	32.9	42.1	39.9	34.96	

Lampiran 8. Hasil Uji Statistika Ekspresi TGF- β

Uji Normalitas

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nilai KN	.219	6	.200 [*]	.950	6	.744
KP	.195	6	.200 [*]	.941	6	.667
P1	.252	6	.200 [*]	.915	6	.470

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Hasil pengujian normalitas dapat dilihat bahwa nilai signifika atau p menunjukkan $p > 0,05$ maka H_0 diterima. Dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal.

Uji Homogenitas Varian

Nilai	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	18.941	2	15	.000

Hasil pengujian homogenitas varian menunjukkan nilai signifikansi (p) sebesar 0,00. Nilai $p > 0,05$, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan memiliki ragam yang homogen.

Pengujian nilai normalitas dan nilai homogenitas pada sampel telah memenuhi syarat, sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian ANOVA.

Deskriptif

Descriptives

Nilai	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					KN	6		
KP	6	28.3967	2.94068	1.20053	25.3106	31.4827	25.18	32.88
P1	6	44.0133	13.31373	5.43531	30.0414	57.9852	29.00	62.80
Total	18	31.0867	12.49057	2.94405	24.8753	37.2981	16.86	62.80

One Way ANOVA

ANOVA

Nilai	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1674.745	2	837.372	12.850	.001
Within Groups	977.497	15	65.166		
Total	2652.242	17			

Nilai p pada hasil pengujian sebesar 0,01, dimana $p < 0,05$ sehingga H_0 ditolak. Dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan signifikan antar kelompok.

Uji Tukey

Nilai

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
KN	6	20.8500	
KP	6	28.3967	
P1	6		44.0133
Sig.		.268	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Hasil pengujian Tukey dengan $\alpha=0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara kelompok.

Lampiran 9. Data Rata-Rata Jumlah Sel Fibroblast

Perlakuan	Ulangan	Lapang Pandang					Rata-rata	Rata-Rata Kelompok
		L1	L2	L3	L4	L5		
KN	Ulangan 1	24	19	19	16	22	20	21,7
	Ulangan 2	19	19	21	22	20	20,2	
	Ulangan 3	14	20	23	22	21	20	
	Ulangan 4	27	24	33	15	20	23,8	
	Ulangan 5	24	18	27	15	27	22,2	
	Ulangan 6	21	25	21	25	28	24	
KP	Ulangan 1	39	28	24	30	50	34,2	40,7
	Ulangan 2	46	53	35	49	51	46,8	
	Ulangan 3	73	56	45	22	25	44,2	
	Ulangan 4	32	22	23	34	39	30	
	Ulangan 5	32	47	37	44	56	43,2	
	Ulangan 6	50	45	40	57	37	45,8	
P1	Ulangan 1	84	42	75	86	75	72,4	70.76667
	Ulangan 2	86	46	52	60	47	58,2	
	Ulangan 3	70	52	58	68	47	59	
	Ulangan 4	61	67	78	66	70	68,4	
	Ulangan 5	60	59	76	64	75	66,8	
	Ulangan 6	143	117	73	80	86	99,8	

Lampiran 10. Hasil Uji Statistika Jumlah Sel Fibroblast

Uji Normalitas

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Fibroblast KN	.286	6	.138	.810	6	.071
KP	.308	6	.078	.839	6	.128
P1	.291	6	.123	.808	6	.069

a. Lilliefors Significance Correction

Hasil pengujian normalitas dapat dilihat bahwa nilai signifikan atau p menunjukkan $p > 0,05$ maka H_0 diterima. Dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal.

Uji Homogenitas Varian

Fibroblast			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.866	2	15	.088

Hasil pengujian homogenitas varian menunjukkan nilai signifikansi (p) sebesar 0,88. Nilai p yang $> 0,05$ menunjukkan H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan memiliki ragam yang homogen.

Pengujian nilai normalitas dan nilai homogenitas pada sampel telah memenuhi syarat, sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian ANOVA.

Deskriptif

Descriptives

Fibroblast

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
KN	6	21.7000	1.89631	.77417	19.7099	23.6901	20.00	24.00
KP	6	40.7000	6.90594	2.81934	33.4527	47.9473	30.00	46.80
P1	6	70.7667	15.25328	6.22713	54.7593	86.7740	58.20	99.80
Total	18	44.3889	22.70636	5.35194	33.0973	55.6805	20.00	99.80

One Way ANOVA

ANOVA

Fibroblast

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7345.084	2	3672.542	38.801	.000
Within Groups	1419.753	15	94.650		
Total	8764.838	17			

Nilai p pada hasil pengujian sebesar 0,00, dimana $p < 0,05$ sehingga H_0 ditolak. Dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan signifikan antar kelompok.

Uji Tukey

Fibroblast

Tukey HSD^a

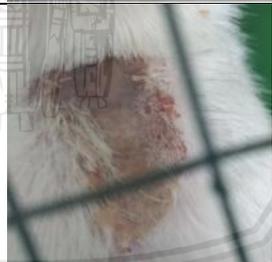
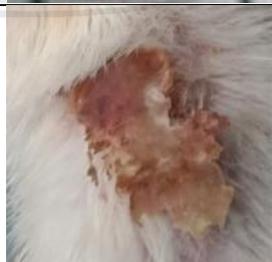
Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
KN	6	21.7000		
KP	6		40.7000	
P1	6			70.7667
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Hasil pengujian Tukey dengan $\alpha=0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara ketiga kelompok.

Lampiran 11. Dokumentasi Kesembuhan Luka Bakar

Tanggal	KP (Salep Konvensional)	P1 (Lemak Cair Omentum Sapi)	Keterangan
21/5/2018			Ganti perban ke-1
23/5/2018			Ganti perban ke-2
25/5/2018			Ganti perban ke-3
28/5/2018			Ganti perban ke-4
30/5/2018			Ganti perban ke-5
1/6/2018			Ganti perban ke-6

2/86/2018			Euthanasi
-----------	---	--	-----------



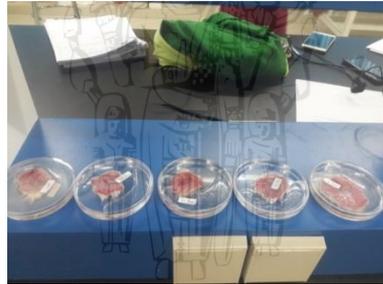
Lampiran 12. Dokumentasi Kegiatan Penelitian**Sterilisasi Lemak Omentum Sapi****Perlakuan Luka Bakar Derajat III****Pemasangan Bandage Pasca Perlakuan**



Pemeliharaan Kandang Individu Pasca Induksi Luka Bakar



Anestesi dan Pengambilan Sampel Luka Bakar pada Hari Ke-15



Fiksasi pada Sampel Kulit