

**PERBEDAAN EFEK TERAPI SALEP VCO (*VIRGIN COCONUT OIL*) DENGAN SEDIAAN TOPIKAL EKSTRAK PLASENTA TERHADAP LUKA BAKAR DERAJAT II-B PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*) DITINJAU DARI EKSPRESI INTERLEUKIN-6 (IL-6) DAN JUMLAH SEL NEUTROFIL**

**SKRIPSI**

Oleh:

**ANISA FITRIA NUR RAHMAN**

**145130107111006**



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

**PERBEDAAN EFEK TERAPI SALEP VCO (*VIRGIN  
COCONUT OIL*) DENGAN SEDIAAN TOPIKAL  
EKSTRAK PLASENTA TERHADAP LUKA  
BAKAR DERAJAT II-B PADA TIKUS  
(*Rattus norvegicus*) DITINJAU DARI  
EKSPRESI INTERLEUKIN-6  
(IL-6) DAN JUMLAH  
SEL NEUTROFIL**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

**Oleh:**

**ANISA FITRIA NUR RAHMAN  
145130107111006**



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

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI****PERBEDAAN EFEK TERAPI SALEP VCO (*VIRGIN COCONUT OIL*)  
DENGAN SEDIAAN TOPIKAL EKSTRAK PLASENTA TERHADAP  
LUKA BAKAR DERAJAT II-B PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*)  
DITINJAU DARI EKSPRESI INTERLEUKIN-6  
(IL-6) DAN JUMLAH SEL NEUTROFIL****Oleh:****ANISA FITRIA NUR RAHMAN  
145130107111006**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
pada tanggal 07 Februari 2019  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

**Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES**  
NIP. 19600903 198802 2 001**drh. Viski Fitri Hendrawan, M.Vet**  
NIK. 19880518 201504 1 003

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Brawijaya

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

## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Anisa Fitria Nur Rahman  
NIM : 145130107111006  
Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan  
Penulis Skripsi berjudul:

Perbedaan Efek Terapi Salep VCO (*Virgin Coconut Oil*) dengan Sediaan Topikal Ekstrak Plasenta terhadap Luka Bakar Derajat II-B pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Ditinjau dari Ekspresi Interleukin-6 (IL-6) dan Jumlah Sel Neutrofil

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 bersedia menanggung segala resiko yang ada.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Februari 2019  
Yang menyatakan,

Anisa Fitria Nur Rahman  
NIM. 145130107111006

**Perbedaan Efek Terapi Salep VCO (*Virgin Coconut Oil*) dengan Sediaan Topikal Ekstrak Plasenta Terhadap Luka Bakar Derajat II-B Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Ditinjau Dari Ekspresi Interleukin-6 (IL-6) dan Jumlah Sel Neutrofil**

**ABSTRAK**

Luka bakar merupakan luka akibat terjadi kontak langsung terhadap sumber panas yang dapat menimbulkan kerusakan bagian tubuh dan dapat menimbulkan infeksi sekunder yang akan mempengaruhi kesembuhan luka. Pengobatan luka bakar umumnya menggunakan sediaan topikal ekstrak plasenta yang akan memicu re-epitelisasi. Sementara itu, *Virgin Coconut Oil* (VCO) memiliki potensi sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan antimikroba yang mampu mempercepat kesembuhan luka. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan efek terapi antara salep VCO dengan sediaan topikal ekstrak plasenta dalam penyembuhan luka bakar derajat II-B. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan *post test only two group experimental design* dan menggunakan dua kelompok perlakuan terapi salep VCO (P1) dan sediaan topikal ekstrak plasenta (P2) yang diberikan dua kali sehari selama 7 hari. Analisa ekspresi IL-6 menggunakan metode Imunohistokimia dan jumlah sel neutrofil jaringan kulit tikus menggunakan pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Data penelitian dianalisa secara statistik menggunakan uji T independen. Rata-rata ekspresi IL-6 pada kelompok P1 dan kelompok P2 didapatkan hasil 65,8044 dan 69,7311, sedangkan rata-rata jumlah sel neutrofil pada kelompok P1 dan kelompok P2 didapatkan 3,2222 dan 3,6889. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan ( $p>0,05$ ) antara kelompok P1 dan kelompok P2 pada luka bakar derajat II-B berdasarkan ekspresi IL-6 dan jumlah sel neutrofil. Kesimpulan dari penelitian ini ialah terapi salep VCO pada luka bakar derajat II-B memberikan respon yang relatif sama dengan sediaan topikal ekstrak plasenta berdasarkan ekspresi IL-6 dan jumlah neutrofil.

**Kata kunci:** Luka bakar, *Virgin Coconut Oil* (VCO), Ekstrak plasenta, IL-6, dan Sel neutrofil.

**The Difference of Therapeutic Effect of Virgin Coconut Oil (VCO) Ointment with Topical Agent of Placenta Extract in Healing II-B Degree Burn On Rats (*Rattus norvegicus*) Based on The Expression of Interleukin-6 (IL-6) and The Number of Neutrophil cells**

**ABSTRACT**

Burn are injuries that occurs due to direct contact of heat sources which can cause damage the body and can cause secondary infection that will affect to wound healing. Currently, treatment of burn generally used topical agent of extract placenta which has ability to accelerate re-epithelialization. Meanwhile, Virgin Coconut Oil (VCO) has the potential as an antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial which capable to accelerate wound healing. The aim of this study to determine the difference of therapy effect between VCO ointment and topical agent of extract placenta in healing II-B degree of burn. This study used completely randomized design (CRD) with post test only two group experimental design and two treatments group with VCO ointment (P1) and topical agent of extract placenta (P2) given twice a day for 7 days. The expression of IL-6 was analyzed by immunohistochemistry method and number of neutrophil cells using Hematoxylin-Eosin staining. Data were analyzed using an independent T test. The average expression of IL-6 in the P1 and P2 groups was 65,8044 and 69,7311, while the average number of neutrophil cells in the P1 and P2 groups was 3,2222 and 3,6889. The result showed that no significant difference ( $p>0,05$ ) between the P1 group and P2 group in degree II-B burn wound based on IL-6 expression and neutrophil cells number. It can be concluded that VCO ointment has a relatively similar response to topical agent of placenta extract in degree II-B burn wound based on the expression of IL-6 and the number of neutrophil cells.

**Key words:** Burn wound, Virgin Coconut Oil (VCO), Placenta extract, IL-6, and Neutrophil cells.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT karena atas segala limpahan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “Perbedaan Efek Terapi Salep VCO (*Virgin Coconut Oil*) dengan Sediaan Topikal Ekstrak Plasenta Terhadap Luka Bakar Derajat II-B Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Ditinjau Dari Ekspresi Interleukin-6 (IL-6) dan Jumlah Sel Neutrofil” dengan baik dan lancar.

Dalam penyelesaian penyusunan skripsi ini, penulis ingin menyampaikan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan serta selaku pembimbing I yang telah bersedia membimbing, memberikan arahan, nasehat dan motivasi kepada penulis.
2. Drh. Viski Fitri Hendrawan, M.Vet selaku pembimbing II yang telah bersedia membimbing, mengarahkan, memberikan nasehat dan motivasi kepada penulis.
3. Drh. Galuh Chandra Agustina, M.Si dan Dhita Evi Aryani, S.Farm, Apt., M. Farm.Klin selaku dosen penguji atas tanggapan, saran dan arahan yang diberikan kepada penulis.
4. Drh. Fajar Shodiq Permata, M.Biotech., selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Universitas Brawijaya.
5. Drh. Dyah Ayu Oktavianie, M.Biotech., selaku Wakil Dekan Bidang Akademik.

6. Keluarga yang saya cintai, ayah Abdul Rahman Sauqi dan ibu Siti Nur Khasanah serta kakak Anita Fahrurizka Nur Rahman yang begitu ikhlas menyayangi, memberikan semangat, doa dan dukungan yang tak terhingga kepada penulis selama menempuh kuliah di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.
7. Sahabat dalam penelitian skripsi “VCO SQUAD” Flora, Ica, Rizal dan Novrizal teman seperjuangan melaksanakan penelitian atas segala dukungan, semangat dan motivasi.
8. Kepada keluarga besar FKH UB 2014A “*Amaze Class*” yang telah memberikan dukungan, kasih sayang dan semangat yang tiada hentinya selama perkuliahan.
9. Sahabat dan teman tersayang Nur Indah, Ekti, Veona, Andhani, Akbar dan Andhika yang telah meluangkan waktu dan memberikan semangat, bantuan serta motivasi selama ini.
10. Semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan laporan ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Akhir kata semoga Allah SWT meridhoi dan memberkahi kita semua dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, khususnya bagi penulis dan para pembaca pada umumnya.

Malang, Februari 2019

Penulis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI .....</b>	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PERNYATAAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>iii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG .....</b>	<b>iii</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Luka Bakar .....	7
2.1.1 Klasifikasi Luka Bakar .....	7
2.1.2 Patofisiologi Luka Bakar .....	9
2.2 Fase Kesembuhan Luka .....	11
2.2.1 Fase Hemostasis .....	11
2.2.2 Fase Inflamasi.....	12
2.2.3 Fase Proliferasi .....	15
2.2.3 Fase Maturasi .....	16
2.3 Struktur Lapisan Kulit.....	17
2.3.1 Epidermis.....	17
2.3.2 Dermis .....	19
2.3.3 Subkutan .....	20
2.4 Fungsi Kulit dalam Sistem Pertahanan Tubuh.....	21
2.5 Ekstrak Plasenta .....	22
2.6 <i>Virgin Coconut Oil</i> (VCO).....	23
2.7 Interleukin-6 (IL-6) .....	24
2.8 Sel Neutrofil .....	25
2.9 Tikus ( <i>Rattus novergicus</i> ) .....	26



<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b>	
3.1 Kerangka Konsep .....	29
3.2 Hipotesa Penelitian .....	33
<b>BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN</b>	
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	34
4.2 Alat dan Bahan Penelitian .....	34
4.3 Sampel Penelitian .....	35
4.4 Rancangan Penelitian .....	36
4.5 Variabel Penelitian .....	36
4.6 Prosedur Kerja .....	37
4.6.1 Persiapan Hewan Coba .....	37
4.6.2 Persiapan dan Pembuatan salep VCO .....	37
4.6.3 Persiapan Sediaan Topikal Ekstrak Plasenta .....	38
4.6.4 Pembuatan Luka Bakar Derajat II-B pada Tikus .....	38
4.6.5 Terapi Salep VCO dan Sediaan Topikal Ekstrak Plasenta .....	39
4.6.6 Pengambilan Sampel .....	39
4.6.7 Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit .....	39
4.6.8 Ekspresi IL-6 dengan Metode Immunohistokimia .....	41
4.6.9 Analisis Data .....	42
<b>BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
5.1 Gambaran Makroskopis Hasil Terapi Salep VCO dan Sediaan Topikal Ekstrak Plasenta terhadap Luka Bakar derajat II-B pada Kulit Tikus .....	43
5.2 Perbedaan Efek Terapi Salep VCO dengan Sediaan Topikal Ekstrak Plasenta pada Luka Bakar Tikus Berdasarkan Ekspresi IL-6 .....	47
5.3 Perbedaan Efek Terapi Salep VCO dengan Sediaan Topikal Ekstrak Plasenta pada Luka Bakar Tikus Berdasarkan Jumlah Sel Neutrofil .....	56
<b>BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
6.1 Kesimpulan .....	63
6.2 Saran .....	63
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>64</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>72</b>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Klasifikasi luka bakar.....	9
2.2. <i>Jackson's burn model</i> .....	10
2.3. Lapisan epidermis.....	19
2.4 <i>Rattus norvegicus</i> .....	27
3.1 Kerangka konsep.....	29
5.1.1 Gambaran makroskopis kulit tikus setelah induksi luka bakar.....	45
5.1.2 Gambaran makroskopis kulit tikus setelah terapi pada hari ke-4.....	46
5.1.3 Gambaran makroskopis kulit tikus setelah terapi pada hari ke-7.....	46
5.2.1 Ekspresi IL-6 pada kulit tikus kelompok P1 setelah terapi pada hari ke-7 dengan metode Imunohistokimia.....	49
5.2.2 Ekspresi IL-6 pada kulit tikus kelompok P2 setelah terapi pada hari ke-7 dengan metode Imunohistokimia.....	49
5.3.1 Jumlah sel neutrofil pada kulit tikus kelompok P1 setelah terapi pada hari ke-7 dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE).....	57
5.3.2 Jumlah sel neutrofil pada kulit tikus kelompok P2 setelah terapi pada hari ke-7 dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE).....	58

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
4.1. Rancangan Penelitian .....	36
5.1 Rata-Rata Prosentase Ekspresi IL-6 pada Kulit Tikus.....	51
5.2 Rata-Rata Jumlah Sel Neutrofil pada Kulit Tikus.....	59



**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Kerangka Operasional Rancangan Penelitian.....	73
2. Laik Etik Penelitian.....	74
3. Standar Mutu VCO Sesuai SNI 7381:2008.....	75
4. Penghitungan Konsentrasi Salep VCO.....	76
5. Informasi Sediaan Topikal Ekstrak Plasenta.....	77
6. Perhitungan Dosis Anestesi.....	78
7. Pembuatan Preparat Histopatologi Jaringan.....	79
8. Metode Imunohistokimia Ekspresi IL-6 .....	80
9. Analisa Ekspresi IL-6 .....	81
10. Analisa Jumlah Sel Neutrofil.....	83



## DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

%	: Persen
±	: Kurang lebih
>	: Lebih dari
°C	: Derajat celcius
AEC	: <i>Amniotic epithelial cell</i>
AMSC	: <i>Amniotic mesenchymal stromal cell</i>
BSA	: <i>Bovine Serum Albumin</i>
C3a	: <i>Complement componen 3a</i>
C5a	: <i>Complement componen 5a</i>
DAB	: <i>Diamino Benzidine</i>
DAMP	: <i>Damage Associated Molecular Pattern</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
ECM	: <i>Extraceluller matrix</i>
FGF	: <i>Fibroblas Growth Factor</i>
GPX	: <i>Glutathione peroxidase</i>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrogen peroksida
HCL	: <i>Hydrochloric</i>
HE	: Hematoksin Eosin
IBM	: <i>International Business Machines Corp.</i>
ICAM-1	: <i>Intercelullar Adhesion Moleculer-1</i>
IHK	: Imunohistokimia
IL-6	: Interleukin-6
IL-1	: Interleukin-1
IL-1β	: Interleukin-1β
IL-2	: Interleukin-2
IM	: Intramuskular
LPS	: Lipopolisakarida
MCP-1	: <i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>
M-CSF	: <i>Macrophage Colony-Stimulating Factor</i>
mg/kgBB	: Miligram per kilogram berat badan
mL	: Mililiter
MIP-1α	: <i>Macrophage Inflammatory Protein 1-Alpha</i>
MIP-2	: <i>Macrophage Inflammatory Protein 2</i>
MMP	: Matriks metalloproteinase
NaCl	: <i>Natrium Chlorida</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
NF-κB	: <i>Nuclear Factor kappa B</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
PAMPs	: <i>Pathogen-Associated Molecular Pattern Molecules</i>
PBS	: <i>Phospat Buffer Saline</i>
PDGF	: <i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
pH	: <i>Power of Hidrogen</i>

PRDX	: <i>Peroxiredoxin</i>
PRRs	: <i>Pattern Recognition Receptors</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SD	: <i>Standar Deviasi</i>
Sig	: <i>Signifikansi</i>
SNI	: <i>Standar Nasional Indonesia</i>
SOD	: <i>Superoksida dismutase</i>
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TBSA	: <i>Total Body Surface Area</i>
TGF- $\beta$	: <i>Transforming Growth Factor Beta</i>
TNF- $\alpha$	: <i>Tumor Necrosis Factor Alfa</i>
VCAM-1	: <i>Vascular Cell Adhesion Molecule-1</i>
VCO	: <i>Virgin Coconut Oil</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>



## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Luka bakar adalah cedera yang diperoleh akibat adanya paparan atau kontak langsung terhadap sumber panas bersuhu tinggi seperti api, listrik, kontak dengan benda panas, air panas, radiasi dan zat kimia yang dapat menyebabkan kerusakan pada bagian tubuh. Tidak hanya mengakibatkan kerusakan pada kulit, luka bakar dapat memberikan efek secara sistemik akibat terjadi peningkatan permeabilitas kapiler yang disebabkan oleh paparan panas dan sering menimbulkan infeksi sekunder yang mempengaruhi kesembuhan luka. Resiko infeksi pada luka bakar sangat rentan terjadi akibat kolonisasi bakteri yang berlebihan pada area luka (Prasetyono, 2016). Menurut Jose (2014), luka bakar akan menghilangkan lapisan pertahanan kulit sehingga memberikan jalan bagi koloni bakteri melakukan penetrasi hingga ke jaringan tubuh yang lebih dalam.

Klasifikasi luka bakar berdasarkan kedalaman kerusakan jaringan dibagi menjadi *partial thickness* atau luka bakar derajat II yang dibagi lagi menjadi derajat II-A (superfisial dermal) serta derajat II-B (*deep dermal*) dan *full thickness* atau luka bakar derajat III yang melibatkan jaringan dermis yang lebih dalam (Prasetyono, 2016). Luka bakar derajat II-B akan memberikan dampak pada jaringan dermis yang lebih dalam meliputi *reticular dermis*. Kondisi luka bakar derajat II-B ditandai dengan warna merah muda yang tidak merata hingga putih pada permukaan kulit dan dapat diikuti dengan *bullae*. Luka membutuhkan waktu selama 3 minggu bahkan lebih untuk sembuh (Herndon, 2017).

Fase-fase pada kesembuhan luka antara lain adalah fase hemostasis, inflamasi, proliferasi dan maturasi. Fase hemostasis memiliki tujuan untuk menghentikan perdarahan akibat rusaknya pembuluh darah melalui pembentukan gumpalan fibrin. Selanjutnya, pada fase inflamasi akan banyak neutrofil yang bergerak ke area luka. Neutrofil berperan dalam debris jaringan dan menghilangkan bakteri dengan melakukan fagositosis (Bunman *et al*, 2017). Menurut Young (2006), neutrofil juga melepaskan substansi toksik untuk menghancurkan bakteri dan bersifat bakterisidal dengan memproduksi ROS (*Reactive Oxygen Species*). Interleukin-6 (IL-6) merupakan salah satu sitokin inflamasi yang akan mengarahkan neutrofil pada area luka dan dapat memperantarai transisi neutrofil menjadi monosit pada fase inflamasi dan diferensiasi monosit menjadi makrofag pada fase proliferasi. Selain itu, IL-6 akan mempengaruhi kemotaksis neutrofil dan makrofag pada area luka (Gabay, 2006). IL-6 juga diketahui dapat meningkatkan proliferasi keratinosit, menstimulasi angiogenesis dan dalam penyusunan kolagen (Hänel *et al.*, 2013).

Selanjutnya pada fase proliferasi akan membentuk jaringan granulasi hingga jaringan luka mengalami pembentukan pembuluh darah dan sel epitel baru sehingga mengembalikan lapisan yang hilang. Pada fase maturasi akan berlangsung selama beberapa tahun untuk menyempurnakan penyembuhan luka hingga jaringan yang rusak akan mencapai struktur jaringan yang normal. Setiap fase-fase kesembuhan akan merilis berbagai macam mediator, kemokin, sitokin dan faktor-faktor kesembuhan lainnya yang saling berkaitan dalam proses kesembuhan luka bakar (Velnar, 2009).

Menurut Larasati (2015), penanganan terhadap luka bakar umumnya menggunakan sediaan topikal yang tersedia dipasaran seperti sediaan topikal ekstrak plasenta, namun sediaan topikal tersebut memiliki efek samping dan biaya yang dikeluarkan cukup tinggi sehingga diperlukan adanya bahan pengganti. Obat topikal ini mengandung ekstrak plasenta 10 % dan neomisin sulfat 0,5 %. Kandungan ekstrak plasenta akan memicu pembentukan jaringan baru yang dibutuhkan dalam proses penyembuhan luka (Wirastuty, 2016). Ekstrak plasenta yang diberikan secara topikal pada luka memiliki waktu bervariasi dalam penyembuhan luka, sehingga diperlukan alternatif lain yang diharapkan memiliki potensi yang lebih baik terhadap kecepatan penyembuhan luka.

Salah satu alternatif ialah dengan menggunakan *virgin coconut oil* (VCO) sebagai terapi pada luka bakar. VCO mengandung asam lemak rantai sedang seperti asam laurat (45-52 %), asam kaprilat (5-10 %) dan asam kaproat (0,5-1 %) yang berperan sebagai antimikrobia (Kapally, 2015). Adanya kandungan *phytosterol*, flavonoid dan asam lemak tak jenuh yang bersifat sebagai antiinflamasi dan antioksidan dapat berfungsi untuk menghambat pembentukan mediator inflamasi sehingga akan memutus siklus asam arakidonat (Muis, 2009). Selain itu juga, VCO dapat melembapkan kulit sehingga mempercepat kesembuhan luka (Silalahi *et al.*, 2015). Dalam penelitian Silalahi *et al.* (2015), hasil VCO dengan kandungan 70 % memiliki pengaruh terhadap kecepatan penyembuhan luka bakar. Namun, penelitian mengenai penggunaan VCO sebagai sediaan salep pada luka bakar belum banyak dikembangkan, sehingga penelitian ini akan meneliti perbedaan efek terapi

pada salep VCO dan sediaan topikal ekstrak plasenta pada proses kesembuhan luka bakar.

Berdasarkan pustaka diatas maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan efek terapi antara salep VCO dan sediaan topikal ekstrak plasenta terhadap luka bakar derajat II-B berdasarkan ekspresi interleukin-6 (IL-6) dan jumlah sel neutrofil pada tikus (*Rattus norvegicus*).

### 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka rumusan masalah yang didapat antara lain adalah:

- 1) Apakah terdapat perbedaan efek terapi antara salep VCO dan sediaan topikal ekstrak plasenta pada terapi luka bakar derajat II-B terhadap ekspresi interleukin-6 (IL-6) pada kulit tikus (*Rattus norvegicus*)?
- 2) Apakah terdapat perbedaan efek terapi antara salep VCO dan sediaan topikal ekstrak plasenta pada terapi luka bakar derajat II-B terhadap jumlah sel neutrofil pada kulit tikus (*Rattus norvegicus*)?

### 1.3. Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka penelitian ini dibatasi pada:

- 1) Hewan model yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan dengan galur *Wistar* yang didapatkan dari Laboratorium Farmakologi Universitas

Brawijaya dengan umur 8-12 minggu dan berat badan antara 150-200 gram (Kusuma dkk., 2016).

- 2) Lokasi luka bakar derajat II-B dibuat pada daerah flank dengan menggunakan solder listrik yang tersambung dengan plat besi berukuran 2x2 cm selama 10 detik (Akbari *et al.*, 2015). Solder dipanaskan selama 5 menit hingga mencapai suhu 100-150°C (Abdeldjelil *et al.*, 2017). Luka derajat II-B ditandai dengan warna kemerahan pada kulit dan terbentuknya edema (Moenadjat, 2003).
- 3) VCO diperoleh dari pasaran yang diproduksi oleh Herba Bagoes. VCO dibuat menjadi sediaan salep konsentrasi 70 % dengan *adepts lanae* yang merupakan modifikasi dari penelitian Silalahi *et al.* (2015). Pemberian sediaan dilakukan selama hari pertama hingga hari ke-7 sebanyak 0,1 gram (Dewantari dkk, 2015).
- 4) Sediaan topikal diperoleh dari pasaran dengan konsentrasi kandungan ekstrak plasenta 10 % dan neomisin sulfat 0,5 % (Kalbemed, 2013). Pemberian sediaan dilakukan selama hari pertama hingga hari ke-7 sebanyak 0,1 gram (Dewantari dkk, 2015).
- 5) Ekspresi interleukin-6 (IL-6) diamati menggunakan metode imunohistokimia dan dianalisa menggunakan aplikasi *Immunoratio* (Hosaka, 2017).
- 6) Jumlah sel neutrofil diamati dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) dan dihitung menggunakan bantuan aplikasi *Image Raster 3.0* (Hosaka, 2017).

#### 1.4. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, terdapat tujuan dari penelitian ini antara lain adalah:

- 1) Mengetahui perbedaan efek terapi antara salep VCO dan sediaan topikal ekstrak plasenta pada terapi luka bakar derajat II-B terhadap ekspresi interleukin-6 (IL-6) pada kulit tikus (*Rattus norvegicus*).
- 2) Mengetahui perbedaan efek terapi antara salep VCO dan sediaan topikal ekstrak plasenta pada terapi luka bakar derajat II-B terhadap jumlah sel neutrofil pada kulit tikus (*Rattus norvegicus*).

#### 1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat dalam penelitian ini adalah sebagai bahan informasi serta sebagai dasar bagi penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan terapi luka bakar derajat II-B menggunakan VCO dan sediaan topikal ekstrak plasenta pada tikus (*Rattus norvegicus*).

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Luka Bakar

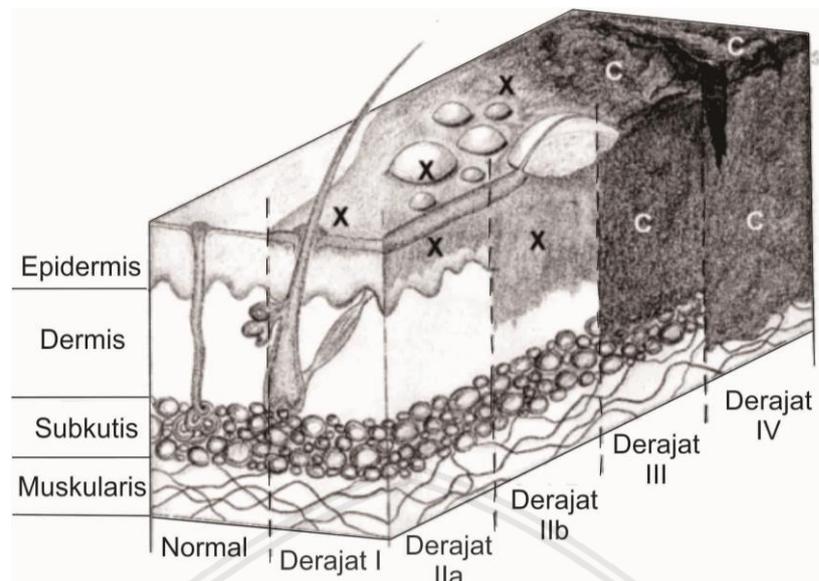
Luka bakar merupakan suatu bentuk kerusakan jaringan yang disebabkan oleh kontak dengan sumber panas. Cedera pada luka bakar ini disebabkan oleh kontak panas yang berasal dari cairan atau air panas, api, listrik, bahan kimia dan yang paling sering terjadi ialah kontak langsung dengan benda panas (Hettiaratchy, 2004). Perubahan patologis umumnya terlihat pada bagian kulit yang bergantung pada ukuran dan luas luka bakar. Selain merusak kulit, luka bakar juga menimbulkan efek sistemik yang dapat mempengaruhi sistem utama tubuh seperti sistem kardiovaskular, respirasi, dan imunologi. Luka bakar lebih mudah mengalami infeksi karena lapisan pertahanan kulit yang telah hilang sehingga bakteri dapat melakukan penetrasi (Jose, 2014).

#### 2.1.1. Klasifikasi Luka Bakar

Penilaian luka bakar berdasarkan dari kedalaman (derajat) dan total luas area permukaan tubuh atau *total body surface area* (TBSA) dalam persen. Menurut Wohlsein (2016), luka bakar dapat diklasifikasikan menjadi beberapa derajat berbeda berdasarkan kedalaman kerusakan jaringannya (**Gambar 2.1**), yaitu:

- a. Luka bakar derajat I (*combustio erythematosa*), merupakan luka bakar yang hanya merusak bagian epidermis sehingga pada hewan minim terjadi hiperemi pembuluh darah. Penyembuhan luka pada derajat I terjadi sekitar 5-10 hari dan tanpa meninggalkan bekas luka.

- b. Luka bakar derajat II-A, memiliki kedalaman luka hingga superfisial dermal sehingga perubahan warna pada kulit yang teramati adalah warna jingga sampai merah. Pada luka bakar ini bisa terdapat edema ataupun tidak dan memiliki waktu penyembuhan luka sekitar 2-3 minggu dengan meninggalkan bekas luka yang ringan.
- c. Luka bakar derajat II-B, memiliki kedalaman luka yang lebih dalam dari superfisial dermal, kulit terlihat berwarna merah hingga putih dan luka bakar derajat II-B ditandai dengan terbentuknya edema. Waktu penyembuhan yang diperlukan ialah 3 minggu bahkan lebih dengan meninggalkan bekas luka yang jelas.
- d. Luka bakar derajat III (*combustio escharotica*), merupakan luka bakar dengan kerusakan keseluruhan tebal kulit dari epidermis, dermis hingga subkutis. Tidak menimbulkan rasa sakit pada luka dan penyembuhan tidak dapat dilakukan apabila tanpa tindakan bedah seperti transplantasi kulit.
- e. Luka bakar derajat IV (*combustio carbonisata*), pada luka bakar derajat ini merusak seluruh bagian tebal kulit hingga muskulus dan tulang sehingga akan menimbulkan efek secara sistemik dan dapat berakibat fatal.



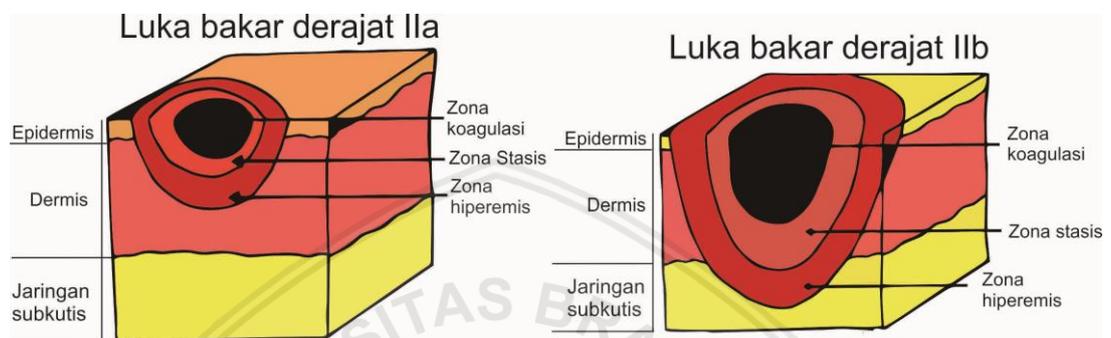
**Gambar 2.1.** Klasifikasi luka bakar (Wohlsein, 2016)

### 2.1.2 Patofisiologi Luka Bakar

Ketika kulit mengalami kontak dengan sumber panas secara berlebihan, tubuh akan memberikan respon kerusakan secara lokal dan sistemik. Respon lokal yang dialami pada luka bakar dibedakan menjadi 3 zona berdasarkan *Jackson's Burn Model (Gambar 2.2)*, yaitu:

- a. Zona koagulasi, merupakan zona dengan kerusakan permanen dan berlokasi di tengah luka bakar. Terdiri atas jaringan nekrosis akibat koagulasi dan denaturasi protein dari kontak panas.
- b. Zona stasis, berlokasi di sekeliling zona koagulasi dengan kerusakan jaringan yang sedang. Pada zona ini sirkulasi aliran darah lambat dan membentuk edema akibat kerusakan kapiler dan membran sel, sehingga memungkinkan terjadi iskemia jaringan dan nekrosis.

- c. Zona hiperemis, berlokasi paling luar dari zona luka bakar dengan kerusakan jaringan yang ringan. Pada zona ini mengalami vasodilatasi dan sirkulasi aliran darah secara bertahap meningkat (Kamolz, 2012).



**Gambar 2.2.** Jackson's burn model (Prasetyono, 2016)

Kontak panas yang mengenai tubuh akan memberikan respon kerusakan sistemik yang membedakannya dengan jenis luka lain, yaitu adanya peningkatan permeabilitas kapiler. Hal ini menyebabkan perpindahan protein dan cairan dari ruang intravaskuler ke ruang interstitial secara cepat, sehingga akan menimbulkan edema yang terjadi pada 8 jam pertama setelah terpapar luka bakar (Rowan, 2015). Peningkatan permeabilitas kapiler dan kebocoran plasma ini setidaknya terjadi hingga 48 jam dan mencapai puncaknya pada 8 jam pertama. Setelahnya, permeabilitas kapiler akan kembali normal dengan membentuk trombus sebagai proses hemostasis tubuh (Tiwari, 2012).

Inflamasi berupa rasa nyeri yang terjadi sesaat setelah luka bakar disebabkan oleh kinin terutama bradikinin yang merupakan mediator vasoaktif yang juga berpengaruh kepada vasodilatasi pembuluh darah dan rasa sakit. Peningkatan sel polimorfonuklear terutama neutrofil terjadi pada 24-48 jam pertama. Keberadaan neutrofil diarahkan oleh agen kemotaktik seperti C5a,

leukotrien B<sub>4</sub> dan platelet pada area luka (Kaplanski, 2002). Neutrofil melakukan fagositosis dan melepaskan beberapa substansi toksik dalam menghancurkan bakteri patogen dan jaringan rusak. Infeksi dapat terjadi pada luka bakar kronis dan terbentuknya eksudat pada luka kronis dapat menghambat proses kesembuhan luka (Prasetyono, 2016). Selanjutnya makrofag dikerahkan pada area luka setelah 48-72 jam sejak terpapar luka bakar yang akan menggantikan peran neutrofil hingga proses penyembuhan luka. Makrofag akan merilis faktor pertumbuhan dan sitokin pada area luka sehingga fibroblas, keratinosit dan sel endotel dapat memperbaiki kerusakan pada pembuluh darah. Pada hari ke-5 akan muncul limfosit T yang mempengaruhi angiogenesis dan pembentukan kolagen bersama dengan interleukin-1 (IL-1) (Scott, 2004).

## **2.2. Fase Kesembuhan Luka**

### **2.2.1 Fase Hemostasis**

Setelah terpapar luka apabila terjadi pendarahan, tubuh akan melakukan respon untuk menghentikan pendarahan melalui proses hemostasis. Pada fase ini pembuluh darah akan mengalami vasokonstriksi untuk mencegah kehilangan darah dan terjadi pembentukan gumpalan fibrin. Proses penghentian pendarahan ini dilakukan oleh platelet yang akan muncul dan segera merilis faktor pembekuan, selain itu platelet juga memproduksi faktor pertumbuhan dan sitokin yang membantu proses kesembuhan disekitar area luka (Young, 2011). Platelet atau trombosit akan berinteraksi dengan kolagen dan menyebabkan platelet teraktivasi. Platelet yang teraktivasi ini akan berlekatan dengan ekstraselular matriks sehingga

akan membentuk agregasi platelet dan sumbatan yang tersusun atas fibronectin, fibrin, vitronectin dan thrombospondin (Velnar, 2009). Platelet menghasilkan protrombin yang akan menjadi trombin dan selanjutnya akan mengkatalis fibrinogen menjadi fibrin dalam pembentukan sumbatan fibrin sehingga menjadi sumbatan yang lebih stabil.

Beberapa faktor pertumbuhan seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF), *epidermal growth factor* (EGF) dan *transforming growth factor- $\beta$*  (TGF- $\beta$ ) akan dirilis oleh platelet yang akan menginisiasi teraktivasi fibroblas, sel endotel dan makrofag dalam perbaikan disekitar jaringan (Enoch, 2004).

### 2.2.2. Fase Inflamasi

Fase inflamasi diawali dengan migrasinya sel-sel inflamasi ke area luka yang ditandai dengan infiltrasi neutrofil, makrofag dan limfosit (Guo, 2010). Fase ini terjadi selama 4-6 hari setelah terjadinya luka. Sebagai respon inflamasi, pembuluh darah akan mengalami dilatasi akibat sekresi histamin dan leukotrien dari sel mast, dan kehadiran kinin serta trombin yang berpengaruh terhadap peningkatan permeabilitas kapiler sehingga menyebabkan kebocoran plasma dan neutrofil disekitar jaringan. Hal inilah yang menyebabkan terjadinya edema jaringan (Thiruvoth, 2015).

Leukosit akan berpindah ke jaringan luka melalui proses diapedesis. Proses ini melibatkan kolagen, *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), IL-1, TGF- $\beta$ , komplemen dan platelet faktor IV yang menyebabkan melekatnya leukosit pada sel endotel kapiler dan melalui interaksi pada membran sel endotel sehingga integrin akan

diekspresikan pada permukaan leukosit. Adanya bantuan dari platelet faktor IV meningkatkan integrin pada permukaan leukosit sehingga perlekatan menjadi lebih kuat. Keberadaan integrin ini yang memungkinkan leukosit berpindah ke luar pembuluh darah hingga ke jaringan luka (Monaco, 2003). Selanjutnya perpindahan leukosit terutama neutrofil terjadi selama 24-48 jam setelah terjadi luka melalui berbagai macam kemokin dan agen kemotaktif seperti *monocyte chemotactic protein-1* (MCP-1), TGF- $\beta$ , C5a, C3a dan produk bakteri. Beberapa kemokin bersama dengan *interleukin-6* (IL-6) akan membantu mengarahkan neutrofil ke area luka (Scheller, 2011). Neutrofil berperan dalam membantu pembersihan luka dari bakteri patogen dan jaringan-jaringan yang mati melalui fagositosis dan melalui sekresi enzim proteolitik. Secara berangsur aktivitas neutrofil akan menurun seiring dengan tidak adanya kontaminasi luka. Selanjutnya neutrofil akan mengalami apoptosis yang dimediasi oleh katepsin D dan peran neutrofil akan digantikan oleh makrofag sebagai respon inflamasi kronis (Thiruvoth, 2015). Transisi neutrofil menjadi akumulasi monosit salah satunya diperantarai oleh IL-6 dengan meningkatkan MCP-1 dan diferensiasi monosit menjadi makrofag dilakukan dengan meningkatkan ekspresi reseptor *macrophage colony stimulating factors* (M-CSF) (Scheller, 2011).

Makrofag muncul 48-72 jam setelah cidera yang akan melanjutkan proses fagositosis, debris jaringan dan mensekresi beberapa sitokin serta faktor pertumbuhan yang menginisiasi proliferasi sel dan angiogenesis (Thiruvoth, 2015). Selama fagositosis, makrofag akan mensekresi faktor kemotaktik untuk menarik sel-sel inflamasi ke area luka dan memproduksi prostaglandin sebagai vasodilatator

pembuluh darah. Dalam menjalankan tugasnya mengeliminasi bakteri, makrofag dan neutrofil akan melepaskan proteinase dan *reactive oxygen species* (ROS).

Menurut Nielson *et al* (2017), pada kejadian luka bakar kehadiran makrofag akan meningkatkan produksi sitokin-sitokin proinflamasi dan berbagai macam ROS seperti superoksida, hidrogen peroksida, hidroksil radikal dan *reactive nitrogen species* seperti *nitric oxide* (NO). Senyawa ROS bersifat radikal bebas yang memiliki keuntungan dalam menjaga dari infeksi bakteri dalam penyembuhan luka. Produksi ROS yang berlebihan, terutama pada luka bakar akan memicu kerusakan pada jaringan tubuh dan aktivasi asam arakidonat yang akan terlibat dalam proses inflamasi berkepanjangan sehingga akan memicu reaksi ulang terhadap mediator-mediator inflamasi. Selain neutrofil dan makrofag, limfosit merupakan sel terakhir yang akan bekerja pada area luka. Limfosit akan berada pada konsentrasi tertingginya pada 5-7 hari setelah luka terjadi dan beberapa sitokin yang dirilis seperti *interleukin-2* (IL-2) memiliki pengaruh besar terhadap proses kesembuhan (Monaco, 2003). Proses pembentukan kolagen dan produksi komponen-komponen dari ekstraseluler matriks yang akan dilanjutkan pada fase selanjutnya dipengaruhi oleh IL-1 (Velnar, 2009). Berakhirnya fase ini ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi yang distimulasi oleh sitokin dengan jaringan yang berwarna merah muda dan dipenuhi dengan jaringan fibrous (Mendonça, 2009).

### 2.2.3 Fase Proliferasi

Fase ini dimulai pada hari ke-4 hingga 2-3 minggu setelahnya. Fase proliferasi ini bertujuan untuk membentuk jaringan granulasi, neovaskularisasi dan penutupan luka (Prasetyono, 2016). Pada fase proliferasi, matriks fibrin yang banyak tersusun atas makrofag dan platelet akan digantikan dengan jaringan granulasi yang terbentuk atas fibroblas, makrofag dan sel endotel. Perpindahan fibroblas dipengaruhi oleh TGF- $\beta$  dan PDGF serta adanya peningkatan reseptor integrin dalam berikatan dengan fibronektin dan fibrin pada matriks luka sementara. Perpindahan fibroblas dapat terhalangi oleh matriks fibrin serta sisa-sisa debris dari area luka, sehingga diperlukan enzim untuk memudahkan migrasi ke area debris luka. Enzim-enzim proteolitik yang dibutuhkan tersebut seperti matriks *metalloproteinase* (MMP-1), *gelatinase* (MMP-2) dan *stromelysin* (MMP-3) ini disekresi oleh fibroblas (Monaco, 2003). Dalam membentuk ekstraseluler matriks yang baru, fibroblas akan berproliferasi dan memproduksi matriks fibronektin, asam hialuronat, kolagen dan proteoglikan yang selanjutnya secara bertahap akan menggantikan matriks fibrin dengan jaringan granulasi. Selain itu juga matriks fibrin ini akan digantikan oleh kolagen tipe III dan akan menjadi kolagen tipe I semasa fase maturasi berlangsung (Thiruvoth, 2015).

Pembentukan pembuluh darah baru sangat diperlukan pada sel-sel dan jaringan baru yang terbentuk sebagai bagian dari proses kesembuhan. Faktor-faktor angiogenik seperti *fibroblast growth factor* (FGF), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), TGF- $\alpha$  dan angiogenin yang dilepaskan oleh makrofag dan neutrofil akan menstimulasi endotel untuk membentuk neovaskuler dalam proses

angiogenesis (Velnar, 2009). Selain itu, pembentukan epitel baru akan membuat keratinosit yang dilepaskan oleh platelet pada awal proses kesembuhan berproliferasi dan berpindah sehingga menutupi luka hingga pada akhirnya akan mengembalikan lapisan epidermal dan mencegah kehilangan kelembapan (Thiruvoth, 2015).

#### 2.2.4 Fase Maturasi

Fase maturasi terjadi selama 6 bulan hingga 1 tahun yang dimulai ketika fase proliferasi masih berlangsung. Fase ini merupakan fase penyembuhan luka hingga jaringan luka mencapai struktur jaringan normal. Selama proses maturasi kumpulan kolagen akan meningkat dan asam hialuronat serta fibronectin akan terdegradasi. Peningkatan kolagen ini juga diikuti dengan peningkatan pertautan jaringan (*tensile strength*). Peningkatan pertautan jaringan tidak akan bisa kembali pada kekuatan awalnya, sehingga serat kolagen hanya mampu mencapai 80% dari kekuatan pertautan jaringan kulit yang normal (Prasetyono, 2016).

Pada fase ini terjadi kontraksi luka yang diakibatkan oleh myofibroblas dan penyesuaian kembali simpanan kolagen. Selama maturasi luka, kolagen tipe III digantikan oleh kolagen yang lebih kuat yaitu kolagen tipe I. Kolagen tipe I memiliki bentuk kumpulan kecil paralel teratur yang lebih rapat dibandingkan dengan kolagen tipe III yang tidak teratur. Selain itu, myofibroblas akan menyebabkan kontraksi luka dengan melekat pada kolagen dan membentuk jaringan parut. Hasil akhir dari jaringan parut yang terbentuk ditandai oleh sel-sel

dan pembuluh darah yang mulai berhenti dan aliran darah pada area luka akan berkurang (Reinke, 2012).

### 2.3. Struktur Lapisan Kulit

Kulit merupakan organ terluas yang menutupi seluruh permukaan tubuh dan memiliki berat 15% dari total berat tubuh (Kolarsick, 2011). Kulit memiliki fungsi utama sebagai pelindung dari berbagai macam gangguan dan rangsangan dari luar, sebagai organ sensori terhadap berbagai reseptor, regulasi suhu dan sintesis vitamin D3 (Young, 2006). Menurut Kalangi (2003), kulit tersusun atas berbagai jenis epitel, jaringan ikat, jaringan otot dan jaringan saraf. Lapisan struktur utama yang dimiliki kulit yaitu epidermis dan dermis yang berasal dari ektoderm dan mesoderm, sedangkan dibawah dermis terdapat subkutan yang tersusun atas jaringan lemak.

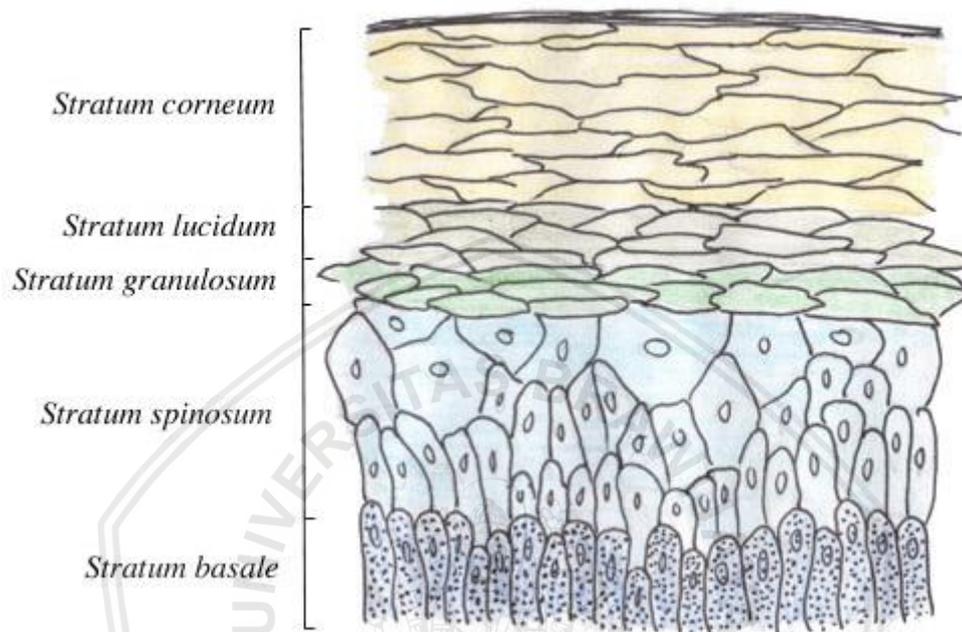
#### 2.3.1 Epidermis

Epidermis merupakan lapisan kulit terluar yang tersusun atas epitel skuamosa berlapis, melanosit sebagai pelindung dari paparan matahari, sel langerhans yang berperan dalam pengenalan antigen dan sel merkel sebagai reseptor terhadap sentuhan (Young, 2006). Epidermis terluar terdiri atas keratinosit yang memberikan karakteristik tahan air serta lapisan yang keras pada kulit (OpenStax, 2016).

Terdapat 5 lapisan epidermis dari dalam keluar yaitu, stratum basal, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidum dan stratum korneum yang dapat dijelaskan sebagai berikut (**Gambar 2.3**):

- a. Stratum basal atau stratum germinativum, merupakan lapisan paling dalam dari epidermis yang terdiri atas sel-sel melanosit yang membentuk pigmen melanin. Stratum basal terdiri atas selapis sel berderet, sel-selnya kuboid atau silindris dan berinti sel besar. Pada lapisan ini memfasilitasi regenerasi sel sehingga sel kulit baru akan bergeser hingga ke lapisan atas dan menjadi lapisan korneum (Wibowo, 2008).
- b. Stratum spinosum, memiliki gambaran jembatan intraseluler atau desmosom pada sel-sel yang berdekatan. Tersusun atas sel prikel yang runcing berbentuk poligonal dengan inti yang lonjong. Pada lapisan ini sel langerhans akan melepaskan makrofag hingga ke epidermis sebagai perlawanan terhadap antigen (Graham-Brown, 2005).
- c. Stratum granulosum, terdiri atas sel yang pipih dan memiliki banyak granula basofilik atau granula keratohialin yang berperan dalam proses kornifikasi kulit (Tranggono, 2007).
- d. Stratum lusidum, merupakan lapisan sel pipih berwarna jernih, tipis dan tidak berinti sel. lapisan jernih ini bernama eleiden sebagai pelindung terhadap air. Lapisan ini hanya terdapat pada kulit yang tebal seperti pada telapak kaki dan tangan (OpenStax, 2016).
- e. Stratum korneum, memiliki sel-sel pipih tanpa inti sel yang mengalami kornifikasi. Sel-sel yang berdekatan saling tumpang tindih sehingga membentuk lapisan yang tebal sebagai bentuk pertahanan yang baik.

Lapisan ini banyak terdiri atas sel-sel mati yang mampu mencegah penetrasi dari bakteri (OpenStax, 2016).



**Gambar 2.3.** Lapisan Epidermis (Hanson, 2011)

### 2.3.2 Dermis

Dermis terletak dibawah epidermis yang terdiri atas jaringan ikat. Dermis tersusun atas serabut kolagen dan elastin yang tersimpan dalam substansi mukopolisakarida atau glikosaminoglikan yang membuat dermis sangat kuat dan elastis. Pada lapisan dermis akan ditemukan fibroblas, sel mast dan makrofag yang memiliki peran terhadap produksi mediator-mediator inflamasi. Berbeda dengan lapisan epidermis, pembuluh darah dapat ditemukan pada lapisan dermis. Selain itu juga, sel saraf dan reseptor sensoris banyak ditemukan pada lapisan dermis (Graham-Brown, 2005).

Dermis memiliki lapisan-lapisan yang tidak jelas batas antara keduanya. Lapisan-lapisan tersebut adalah stratum papilaris yang terletak superfisial dan stratum retikularis yang terletak lebih dalam. Stratum papilaris ditandai dengan adanya papila dermis yang terbuat dari lapisan longgar dan terdapat banyak serat kolagen dan elastin. Umumnya papila dermis ini mengandung pembuluh darah untuk menutrisi epitel disekitarnya dan terdapat badan Meissner pada ujung saraf sensori (Kalangi, 2013).

Selanjutnya terdapat lapisan dermis yang lebih dalam dan juga paling tebal yaitu stratum retikularis. Stratum retikularis memiliki serat kolagen dan elastin yang lebih tebal. Lapisan ini memiliki jaringan lemak, kelenjar keringat dan sebacea serta folikel rambut yang mengisi rongga-rongga kolagen bagian dalam. Pada keadaan dermis yang normal sel mast dan makrofag jarang terlihat dalam lapisan ini, tetapi jumlahnya akan meningkat pada beberapa penyakit kulit (Young, 2006).

### **2.3.3 Subkutan**

Lapisan hipodermis atau subkutan terletak dibawah retikularis dermis dan merupakan lapisan yang mengikat kulit ke organ-organ dalam. Terdiri atas jaringan ikat longgar yang memiliki banyak sel lemak dari jaringan adiposa. Jaringan-jaringan ini berfungsi sebagai penyimpanan lemak dan sebagai bantalan bagi kulit (OpenStax, 2016). Ukuran dan jumlahnya bergantung pada daerah di tubuh dan keadaan individu. Lapisan subkutan memiliki fungsi sebagai pelekat jaringan ke struktur dasar, menyimpan panas, sebagai cadangan kalori dan menjaga bentuk tubuh (Kalangi, 2014).

#### 2.4. Fungsi Kulit dalam Sistem Pertahanan Tubuh

Kulit merupakan organ terluas yang dimiliki oleh tubuh dan organ yang paling sering terpapar oleh berbagai rangsangan dan gangguan dari luar (Kolarsick, 2012). Secara alami terdapat banyak mikroorganisme dan antigen yang berada pada kulit untuk membantu melindungi dari serangan patogen. Secara struktural, lapisan epidermis berfungsi sebagai pelindung kulit (*barrier*) dari infeksi dan bersifat tahan air. Sel-sel epidermis seperti keratinosit, melanosit, sel langerhans dan sel merkel berperan dalam sistem imun (Bueno, 2014).

Sistem imun non spesifik seperti sel dendritik dan makrofag mengekspresikan *pattern recognition receptors* (PRRs) yang akan mendeteksi mikroorganisme ketika terjadi serangan melalui jalur *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs). PAMPs ini merupakan pola yang diekspresikan oleh permukaan sel mikroorganisme yang dapat berinteraksi dengan sistem imun, sehingga menimbulkan inisiasi respon imun awal pada kulit. Selain keratinosit, sel langerhans juga dapat mengekspresikan PRRs yang dapat mendeteksi serangan dari makrofag, sel mast, sel B dan T, sel plasma dan sel NK (Mann, 2012).

Sama halnya dengan mikroorganisme patogen yang dapat mengekspresikan pola, sel-sel yang rusak juga dapat mengekspresikan pola yang dapat dikenali oleh sistem imun. Pola tersebut dikenal dengan *damage associated molecular pattern* (DAMP). Adanya aktivasi reseptor DAMP merupakan sinyal yang menandakan dimulainya respon inflamasi. DAMP akan menyajikan antigen, aktivasi sel T dan mensekresi sitokin proinflamasi seperti IL-6, TNF- $\alpha$ , dan IL-1 $\beta$  (Richmond, 2014).

## 2.5. Ekstrak Plasenta

Plasenta yang berasal dari hewan maupun manusia telah lama digunakan sebagai obat tradisional untuk mengatasi berbagai kondisi patologis. Dalam perkembangannya, ekstrak plasenta digunakan untuk penyembuhan penyakit karena kandungannya kaya akan stimulator biogenik (Pan, 2017). Ekstrak plasenta digunakan dalam dunia medis untuk membuat jaringan baru dan preparasi peptida. Peptida yang dimiliki ekstrak plasenta berhomolog dengan fibronektin tipe III yang merupakan bagian dari prinsip penyembuhan luka (Park, 2010). Ekstrak plasenta memiliki sifat antiinflamasi dan antioksidan karena kandungan yang dimiliki ekstrak plasenta paling banyak tersusun atas enzim dan memiliki kandungan lain seperti asam nukleat, asam lemak, asam amino, steroid, vitamin dan mineral (Dolgorsuren, 2017).

Ekstrak plasenta merupakan bahan yang digunakan pada sediaan obat topikal berbentuk gel. Sediaan obat topikal ini memiliki kandungan bahan aktif ekstrak plasenta 10% dan neomisin sulfat 0,5% yang berperan dalam proses kesembuhan pada luka bakar (MIMS, 2012). Pada fase penyembuhan luka, ekstrak plasenta akan meningkatkan TGF- $\beta$ , VEGF dan FGF yang akan memicu pembentukan sel epitel baru dan menginisiasi pembentukan pembuluh darah baru sehingga akan mempercepat regenerasi sel. Ekstrak plasenta akan menurunkan produksi radikal bebas dan beberapa sitokin inflamasi seperti IL-6 (Olena, 2018). Kandungan neomisin sulfat akan berfungsi sebagai antibakteri untuk mencegah terjadinya infeksi bakteri pada luka dengan menghambat sintesis protein dengan berikatan pada 30S subunit ribosom yang pada akhirnya akan menimbulkan

kematian sel bakteri (Eli, 2014). Selain berperan dalam kesembuhan pada luka bakar, ekstrak plasenta ini juga dapat digunakan pada beberapa indikasi seperti eksim pioderma, tukak dekubital, impetigo, turunkulosis dan infeksi kulit lainnya (MIMS, 2012).

## **2.6. Virgin Coconut Oil (VCO)**

Tumbuhan kelapa (*Cocos nucifera*) termasuk dalam keluarga palmae yang merupakan sumber utama dari VCO. VCO memiliki karakteristik minyak yang tidak berwarna, bening dan memiliki aroma kelapa segar (Ahmad, 2015). *Virgin coconut oil* (VCO) atau minyak kelapa murni adalah olahan minyak yang didapatkan dari buah kelapa tua yang segar yang tidak mengalami pemutihan atau pemurnian (Kapally, 2015). VCO diperoleh dari santan kelapa melalui metode basah sehingga akan mempertahankan komponen-komponen penting seperti vitamin dan polifenol (Nevin, 2010).

VCO memiliki kandungan asam lemak rantai sedang dan tokoferol yang lebih aktif dibandingkan minyak kelapa biasa. Komposisi dari asam lemak yang dimiliki VCO terdiri atas asam laurat (45-52%), asam miristat (16-21%), asam palmitat (7-10%), asam kaprilat (5-10%), asam kaprat (4-8%), asam stearat (2-4%), asam kaproat (0,5-1%) dan asam palmitolat (Kapally, 2015). VCO yang digunakan secara topikal akan berfungsi sebagai antimikroba yang dipengaruhi oleh asam lemak rantai sedang yang dimiliki. Kandungan monolaurin merupakan turunan monogliserida dari asam laurat yang memberikan efek sebagai antibakteri dengan mekanisme kerja yang akan merusak membran sel bakteri (Silalahi, 2014). Selain

berperan sebagai antimikroba, VCO memiliki fungsi sebagai antioksidan yang diperankan oleh tokoferol dan senyawa fenolik seperti katekin, asam *p-coumaric*, asam vanilat, asam ferulat dan asam kafeat (Nevin, 2010). Sifat antimikroba dan antioksidan dalam VCO akan memicu pertumbuhan fibroblas dan proliferasi sel sehingga meningkatkan percepatan penutupan luka (Ahmad, 2017).

VCO memiliki fungsi sebagai antiinflamasi yang diketahui dapat menurunkan stimulasi sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1, dan IL-6. VCO juga mampu memperbaiki *barrier* kulit dan diferensiasi keratinosit dengan meningkatkan regulasi dari aquaporin, filaggrin dan involucrin sehingga mempengaruhi ekspresi sel proinflamasi yang diproduksi oleh keratinosit dan mengembalikan fungsi kulit sebagai pelindung (*barrier*) (Varma *et al.*, 2010).

### **2.7. Interleukin-6 (IL-6)**

Interleukin-6 (IL-6) merupakan salah satu sitokin yang merespon luka pada fase inflamasi. IL-6 merupakan mediator proinflamasi yang diproduksi oleh berbagai jenis sel seperti makrofag, monosit, fibroblas, keratinosit dan sel endotel, pada kulit keratinosit merupakan produser utama dari IL-6 (Werner, 2007). Ketika terjadi luka, IL-6 akan melakukan berbagai fungsi sehingga mengakumulasi trombosit dan penggumpalan serta mengaktivasi granulosit hingga pada akhirnya menyebabkan kebocoran pembuluh darah akibat gangguan permeabilitas kapiler pada area luka (Naseem, 2016). Pada kejadian luka bakar, sitokin IL-6 akan mengalami peningkatan konsentrasi secara konsisten apabila dibandingkan dengan kasus selain luka bakar (Herndon, 2017). IL-6 pada area luka akan menginduksi

infiltrasi leukosit dalam jumlah besar pada kondisi inflamasi dan mengekspresi kemokin seperti *macrophage inflammatory protein-2* (MIP-2) dan *macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$*  (MIP-1 $\alpha$ ) yang merupakan agen kemotaktik bagi neutrofil dan makrofag. Selain itu, IL-6 dapat meningkatkan regulasi IL-1 dan bersama TNF- $\alpha$  akan mengekspresi molekul adhesi yang diperlukan leukosit untuk melakukan ekstravasasi terutama *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) dan *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) pada endotel (Lin, 2003). IL-6 berperan dalam hematopoiesis, respon imunologi dan inflamasi. Selain itu juga pada fase inflamasi kronis IL-6 memiliki fungsi dalam maturasi limfosit B, regulasi limfosit T, dan menginduksi protein pada fase akut seperti serum amyloid A, fibrinogen dan *C-reactive protein* yang memiliki fungsi dalam re-epitelisasi (Naseem, 2016).

## 2.8. Sel Neutrofil

Sel neutrofil merupakan bagian dari leukosit yang memiliki granula spesifik yang memiliki inti dengan 3-5 segmen. Granula sel neutrofil terdiri atas dua macam yaitu, azurofilik yang mengandung enzim lisozim dan peroksidase serta granula spesifik yang lebih kecil mengandung fosfatase alkali dan zat-zat bakterisidal fagositin (Effendi, 2003). Neutrofil merupakan fagosit yang dapat menghancurkan patogen karena neutrofil mampu menangkap patogen untuk kemudian dihilangkan melalui proses fagositosis didalam vakuolnya. Selama menangkap dan mencerna patogen, neutrofil menggunakan enzim lisozim dan radikal bebas (ROS dan NO) (Wahid, 2016). Menurut Young (2011), sel neutrofil setidaknya memiliki beberapa mekanisme dalam menghilangkan patogen pada proses penyembuhan luka yaitu

dengan mendigesti secara langsung dan menghancurkan debris serta bakteri melalui proses fagositosis, dengan melakukan degranulasi dan melepaskan beberapa macam substansi toksik (laktoferin, protease, neutrofil elastase, dan katepsin) untuk menghancurkan bakteri dan jaringan mati, serta memproduksi radikal bebas melalui aktivitas neutrofil sebagai bakterisidal.

Sel neutrofil merupakan sel pertahanan pertama ketika terjadi cedera atau kerusakan jaringan. Kemampuan sel neutrofil keluar dari pembuluh darah menuju lokasi luka dipengaruhi oleh mediator kemotaksis yang dibentuk oleh kemokin, debris bakteri dan jaringan, aktivasi komplemen dan leukotrien dari sel neutrofil itu sendiri. Untuk melakukan pembersihan patogen dan debris jaringan dalam respon inflamasi pada lokasi luka, sel neutrofil melakukan beberapa peristiwa sebelum tiba pada lokasi luka. Beberapa peristiwa tersebut seperti marginasi, *rolling*, adhesi pada sel endotel, diapadesis dan Bergeraknya neutrofil ke lokasi luka akan mempengaruhi berbagai macam mediator inflamasi dan mengaktifkan sistem pengikatan antara ligan dan reseptor sehingga memicu penarikan neutrofil pada area luka dalam proses penyembuhan luka (Wahid, 2016).

## 2.9. Tikus (*Rattus norvegicus*)

Menurut Sharp (2013), klasifikasi tikus (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia  
Filum : Chordata  
Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia  
Subordo : Myomorpha  
Familia : Muridae  
Genus : *Rattus*  
Spesies : *norvegicus*

Hewan coba tikus dengan galur *wistar* merupakan hewan laboratorium yang sengaja dibiakkan untuk kepentingan dalam pengembangan ilmu pengetahuan melalui sebuah penelitian ataupun aktivitas laboratorium, salah satunya sebagai hewan model luka bakar. Tikus telah lama digunakan sebagai hewan percobaan karena memiliki beberapa keuntungan yaitu biaya perawatan yang terjangkau, mudah untuk dipelihara dan lebih mudah untuk ditangani. Sebagai hewan percobaan model luka bakar, tikus dalam beberapa penelitian digunakan untuk mengamati luka bakar secara patologis dan termasuk pengaruh pemberian obat secara lokal dan sistemik dalam penyembuhan luka bakar (Abdeldjelil *et al.*, 2017).



**Gambar 2.4.** *Rattus norvegicus* (Milind, 2013)

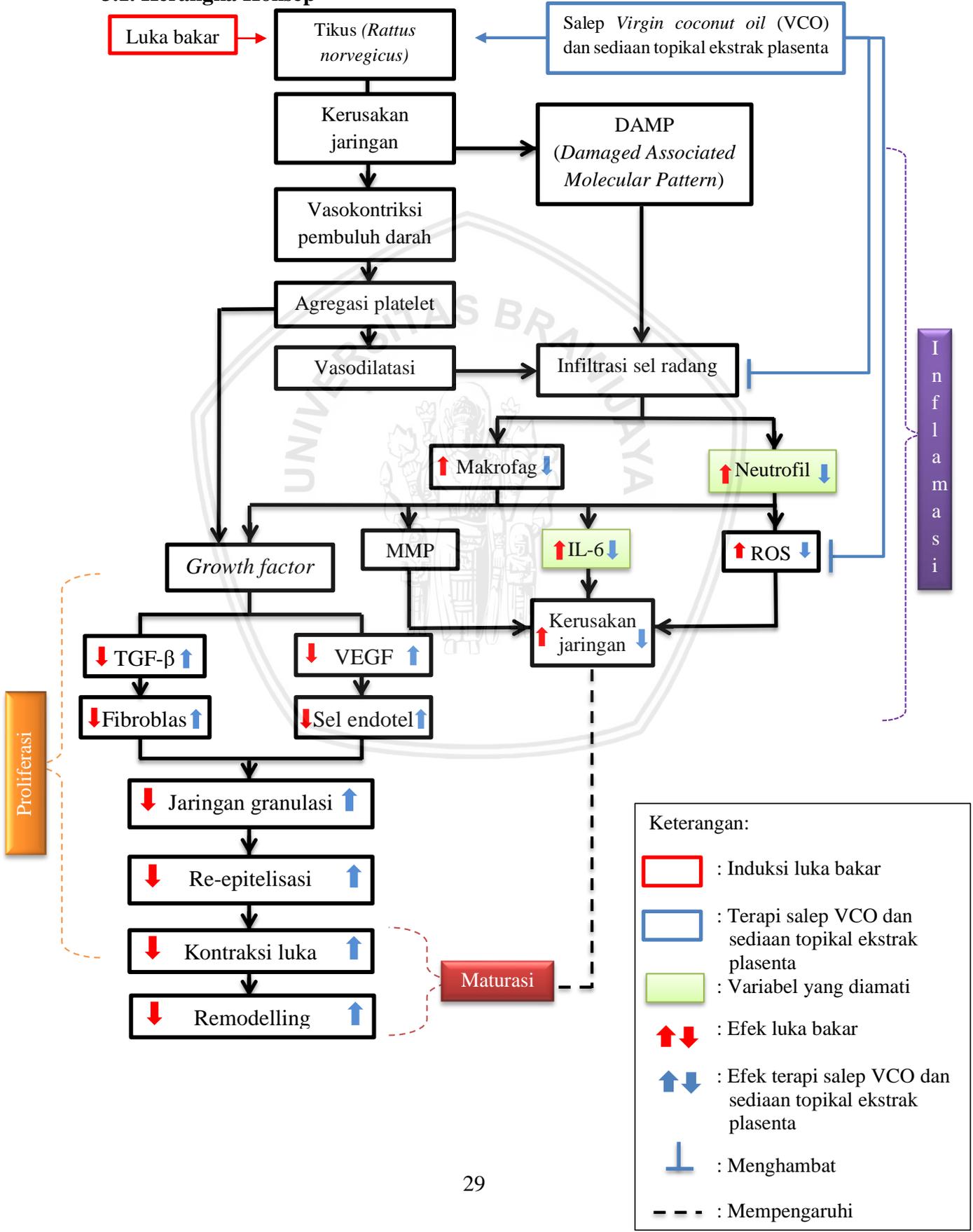
Terdapat beberapa galur tikus yang umum digunakan dalam penelitian antara lain *Wistar* dan *Sprague-Dawley*. Tikus dari galur *Wistar* memiliki ciri khas seperti kepala yang lebar, telinga lebih besar, memiliki ekor yang tidak terlalu

panjang dan termasuk tikus albino dari spesies *Rattus norvegicus* (**Gambar 2.4**). Tikus jantan umum digunakan dalam penelitian, hal ini dikarenakan tikus jantan memiliki siklus hormonal yang lebih stabil dan penanganan yang lebih mudah dibandingkan dengan tikus betina (Alexandru, 2012).



BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konsep



Konduksi panas dari plat besi yang diberikan pada kulit tikus akan menimbulkan luka bakar hingga bagian dermis kulit. Apabila terjadi pendarahan akibat kerusakan jaringan, tubuh akan merespon dengan melakukan vasokonstriksi pembuluh darah dan kemudian terjadi agregasi platelet yang akan hadir dan berkumpul pada area luka dan membentuk sumbatan platelet. Lalu terjadi pembentukan fibrin dari fibrinogen yang akan membentuk sumbatan fibrin yang lebih stabil hingga terjadi penggumpalan darah. Kerusakan jaringan dan pembuluh darah menyebabkan pelepasan mediator inflamasi seperti histamin dan leukotrien yang menyebabkan vasodilatasi pembuluh darah untuk mensuplai darah menuju daerah luka. Sehingga daerah tersebut akan berwarna merah dan terasa hangat. Adanya kinin dan trombin akan meningkatkan permeabilitas kapiler sehingga terjadi perpindahan cairan plasma ke ekstraseluler yang menyebabkan terbentuknya edema lokal. Selain itu, juga terjadi peningkatan migrasi neutrofil ke jaringan melalui sela-sela endotel yang dibantu oleh peran kemokin dalam melakukan kemotaksis ke area patogen dan jaringan mati.

Adanya kerusakan jaringan akan mengekspresikan molekul *Damaged Associated Molecular Pattern* (DAMP) yang akan mempengaruhi sel radang dengan mengaktifasi makrofag dan menginisiasi penarikan neutrofil serta sitokin proinflamasi pada area luka. Sel radang memiliki peran dalam fagositosis patogen dan debris jaringan mati. Neutrofil yang muncul dan melakukan fagositosis akan mengalami penurunan jumlah ketika tidak terjadi kontaminasi dan peran neutrofil akan digantikan oleh makrofag yang berasal dari monosit. Pada saat fagositosis, neutrofil dan makrofag akan memproduksi ROS untuk membantu mengeliminasi

patogen, namun kadar ROS yang tinggi dapat bersifat toksik pada jaringan normal disekitarnya sehingga menimbulkan kerusakan jaringan. Makrofag merupakan penghasil sitokin proinflamasi seperti IL-6 dan juga beberapa faktor pertumbuhan. Makrofag juga mensekresikan enzim MMP untuk melakukan degradasi matriks ekstraseluler. MMP berperan dalam respon inflamasi dengan melakukan pengaturan pada sitokin, kemokin dan faktor pertumbuhan. Penarikan neutrofil dapat melepaskan ROS dalam jumlah banyak yang dapat menunda kesembuhan luka sehingga IL-6 akan memperantarai transisi neutrofil menjadi akumulasi monosit pada fase inflamasi dan dalam diferensiasi monosit menjadi makrofag pada fase proliferasi. Hal ini dapat mempersingkat waktu proses inflamasi sehingga luka dapat segera masuk ke fase proliferasi. IL-6 yang terus diproduksi oleh makrofag menyebabkan proses inflamasi yang lebih lama dan akan merusak jaringan perifer. Proses inflamasi yang tidak segera terlewati akan menghambat dan membuat kesembuhan luka semakin lama.

Terapi salep VCO dapat mempercepat penyembuhan luka karena memiliki sifat sebagai antimikroba, antioksidan, dan antiinflamasi. Asam lemak rantai sedang yang dimiliki VCO bersifat antimikroba yang mampu membunuh bakteri, virus dan fungi. VCO mengandung monolaurin yang merupakan monogliserida dari asam laurat yang bersifat sebagai antibakteri dengan merusak membran lipid bakteri. Akitivitas antimikroba yang dimiliki asam laurat merupakan substansi yang paling baik diantara kandungan asam lemak jenuh lainnya yang dimiliki VCO. Sebagai antioksidan, VCO memiliki kandungan tokoferol yang dapat mencegah kerusakan jaringan dengan menghambat pembentukan radikal bebas dan dengan

melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas. Adanya asam lemak tak jenuh pada VCO serta senyawa *phytosterol* dan flavonoid memiliki sifat antiinflamasi yang dapat menghambat siklus asam arakidonat pada jalur siklooksigenase dan lipoksigenase sehingga dapat menurunkan produksi sitokin proinflamasi seperti IL-6 dengan menghambat aktivitas makrofag, selain itu juga mampu menghambat peningkatan permeabilitas kapiler. Penurunan sitokin proinflamasi dan penurunan migrasi sel radang ini akan meningkatkan faktor pertumbuhan TGF- $\beta$  dalam pembentukan fibroblas. Pendeknya fase inflamasi pada luka diharapkan akan mempercepat luka memasuki fase selanjutnya yaitu fase proliferasi dan maturasi.

Selain memproduksi sitokin, makrofag juga menghasilkan *growth factor*. Aktivitas platelet juga merilis beberapa *growth factor* seperti PDGF, TGF- $\beta$ , dan EGF yang akan menginisiasi sel-sel radang pada area luka dan aktivasi fibroblas. Pada fase proliferasi faktor pertumbuhan seperti TGF- $\beta$  akan mengaktifkan fibroblas yang menyusun matriks ekstraselular baru dan mempengaruhi migrasi keratinosit. Selain itu juga adanya VEGF akan membentuk sel endotel baru yang pada akhirnya fibroblas dan sel endotel akan menyusun jaringan granulasi. Kandungan ekstrak plasenta yang dimiliki oleh sediaan topikal ekstrak plasenta membantu meningkatkan jumlah TGF- $\beta$  dan VEGF sehingga regenerasi sel meningkat dengan menstimulasi inisiasi jaringan baru dan angiogenesis. Adanya enzim MMP juga membantu migrasi endotel dan neovaskularisasi di dasar luka. Selain itu, MMP menginduksi proliferasi dan migrasi sel hingga terbentuk epitel baru untuk menutupi luka. Pada fase maturasi, migrasi keratinosit yang dipengaruhi

oleh TGF- $\beta$  akan menginduksi luka untuk membentuk epitel baru dan kolagen. Setelah terbentuk epitel baru adanya myofibroblas akan menimbulkan kontraksi luka dan terjadi perubahan kolagen dari kolagen tipe III menjadi kolagen tipe I yang dapat berlangsung dalam hitungan tahun. Pada sediaan topikal ekstrak plasenta juga memiliki kandungan neomisin sulfat yang bersifat bakteriosidal sehingga dapat mencegah terjadinya infeksi dengan membunuh bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Kombinasi antara sediaan topikal ekstrak plasenta dan neomisin sulfat ini akan membantu meningkatkan kecepatan dalam kesembuhan luka.

### 3.2. Hipotesa Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah disebutkan, maka hipotesis yang diajukan adalah sebagai berikut:

1. Pemberian salep *virgin coconut oil* (VCO) memiliki respon lebih baik dibanding sediaan topikal ekstrak plasenta dengan menurunkan ekspresi IL-6 pada proses penyembuhan luka bakar derajat II-B pada tikus (*Rattus norvegicus*).
2. Pemberian salep *virgin coconut oil* (VCO) memiliki respon lebih baik dibanding sediaan topikal ekstrak plasenta dengan menurunkan jumlah sel neutrofil pada proses penyembuhan luka bakar derajat II-B pada tikus (*Rattus norvegicus*).

## BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

### 4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari hingga Maret 2018.

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan di beberapa laboratorium antara lain:

1. Pemeliharaan hewan coba dan pemberian perlakuan hewan coba dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Pembuatan salep *Virgin Coconut Oil* (VCO) dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
3. Pembuatan preparat histopatologi kulit dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Kessima Medika Malang.
4. Pembuatan preparat imunohistokimia untuk pengamatan ekspresi IL-6 dilakukan di Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

### 4.2 Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya dalah kandang tikus, botol minum tikus, *underpad*, sarung tangan (*glove*), peralatan bedah, solder listrik, timbangan, *disposable syringe* 1 mL, *waterbath*, pot organ, mikrotom, plastik *zipper*, mikroskop, *software* SPSS ver. 24, *Immunoratio* dan aplikasi *Image Raster 3.0*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar dengan berat 150-200 gram, pakan standar dan

minum tikus, VCO, sediaan topikal ekstrak plasenta, *adepts lanae*, ketamin HCL 1%, xylazine 2%, alkohol 70%, alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%), NaCl fisiologis, pewarna hematoksilin eosin (HE), kaca obyek, *cover glass*, jaringan kulit tikus, akuades, parafin, xylol, formalin 10%, PBS,  $H_2O_2$ , *Bovine Serumen Albumin* (BSA) 1%, etanol, air deionisasi, diaminobenzidine (DAB), antibodi primer IL-6 dan antibodi sekunder.

### 4.3 Sampel Penelitian

Sampel penelitian menggunakan hewan coba berupa tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar dengan jenis kelamin jantan berusia 8-12 minggu dengan berat badan 150-200 gram. Hewan coba dilakukan aklimatisasi selama tujuh hari untuk menyesuaikan diri dengan kondisi di laboratorium. Perkiraan jumlah sampel dihitung dengan rumus (Gunawan, 2015):

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

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

$$2n - 2 \geq 15$$

$$2n \geq 15 + 2$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq 8,5$$

Keterangan:

p : jumlah perlakuan

n : jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan hasil penghitungan yang telah diuraikan, untuk 2 kelompok perlakuan memerlukan jumlah ulangan setidaknya 9 kali dalam setiap perlakuan sehingga dibutuhkan minimal 18 ekor tikus.

#### 4.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan *post test only two group design*. Pengambilan data dilakukan pada akhir penelitian setelah dilakukan perlakuan dengan membandingkan hasil sehingga dapat menentukan suatu perbedaan diantara kedua kelompok. Hewan model penelitian yang dibagi menjadi 2 kelompok secara acak (**Tabel 4.1**) dan tiap kelompok terdiri atas 9 tikus. Kelompok perlakuan pada penelitian ini yaitu:

**Tabel 4.1.** Rancangan Penelitian

Kelompok	Perlakuan
P1	Luka bakar derajat II-B + salep VCO
P2	Luka bakar derajat II-B + sediaan ekstrak plasenta

#### 4.5 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

Variabel bebas : dosis terapi salep VCO dan dosis sediaan topikal ekstrak plasenta

Variabel terikat : ekspresi IL-6 dan jumlah sel neutrofil pada luka

Variabel kontrol : luka bakar derajat II-B, homogenitas tikus (jenis kelamin, berat badan, umur, pakan, kandang)

## 4.6 Prosedur Kerja

### 4.6.1 Persiapan Hewan Coba

Pada penelitian ini menggunakan hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) yang sebelumnya dilakukan aklimatisasi selama 7 hari dengan pemberian pakan standar. Pemberian pakan dan minum dilakukan sebanyak dua kali sehari pada pagi dan sore hari. Tikus yang digunakan merupakan tikus jantan dengan galur *Wistar* berusia 8-12 minggu dengan berat badan 150-200 gram (Kusuma dkk, 2016). Tikus dibagi menjadi 2 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok terdiri atas 9 ekor tikus. Pemeliharaan tikus dilakukan dalam kandang individu dengan jumlah 1 ekor pada setiap kandang. Pemeliharaan tikus dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

### 4.6.2 Persiapan dan Pembuatan Salep VCO

Pada penelitian ini menggunakan VCO yang tersedia dipasaran yang sesuai dengan standar pada SNI 7381:2008 (**Lampiran 2**). VCO diperoleh dari buah kelapa (*Cocos nucifera*) segar yang diproses melalui pemanasan atau tanpa pemanasan dan tanpa penambahan atau pengurangan apapun yang dapat mengubah sifat minyak (Ahmad, 2015). Penyimpanan VCO dalam botol yang tertutup rapat dan disimpan pada suhu ruang yang kering dan dijauhkan dari sinar matahari langsung.

Pemberian VCO diaplikasikan secara topikal yang dibuat dalam sediaan salep. Salep dibuat pada awal penelitian yang akan digunakan untuk lama penggunaan 7 hari (**Lampiran 3**). Penelitian ini menggunakan salep dengan

konsentrasi VCO 70% berdasarkan penelitian Silalahi, *et al.* (2015). Pembuatan salep diawali dengan menyiapkan bahan dasar salep, yaitu *adepts lanae*. VCO dengan konsentrasi 70% tersebut diformulasikan dengan *adepts lanae* dan dihomogenkan hingga membentuk sediaan salep. Pencampuran dilakukan menggunakan alat mortar dan disimpan dalam wadah yang tertutup rapat (Hastuti, 2017).

#### **4.6.3 Persiapan Sediaan Topikal Ekstrak Plasenta**

Penelitian ini menggunakan sediaan topikal ekstrak plasenta yang tersedia dipasaran. Sediaan tersedia dalam bentuk gel yang memiliki kandungan ekstrak plasenta 10% dan neomisin sulfat 0,5% (Kalbemed, 2013). Informasi mengenai sediaan dapat dilihat pada **Lampiran 4**.

#### **4.6.4 Pembuatan Luka Bakar Derajat II-B pada Tikus**

Sebelum induksi luka bakar, pada hewan coba tikus dilakukan pencukuran rambut pada area flank dengan diameter 2x2 cm dan diberi alkohol 70% sebagai desinfeksi. Tikus dilakukan anestesi dengan menggunakan ketamin HCL 10% dosis 10 mg/kgBB dan xylazine 2% dosis 2 mg/kgBB secara intramuskular (**Lampiran 5**). Pembuatan luka bakar menggunakan solder listrik yang telah dipanaskan selama 5 menit. Selanjutnya solder listrik ditempelkan pada kulit tikus selama 10 detik. Untuk menghentikan perluasan luka, pada area induksi luka bakar dikompres menggunakan air selama 1 menit (Kusuma, 2014). Luka bakar derajat II-B ditandai dengan adanya kemerahan dan terbentuknya edema pada kulit (Moenadajat, 2003).

#### 4.6.5 Terapi Salep VCO dan Sediaan Topikal Ekstrak Plasenta

Pemberian terapi dilakukan sebanyak 2 kali sehari pada pagi hari pukul 09.00 WIB dan sore hari pukul 16.00 WIB. Pemberian pertama dilakukan 10-15 menit setelah induksi luka bakar. Terapi dilakukan selama 7 hari dengan dosis yang diberikan pada setiap olesan  $\pm 0,1$  gram pada tiap tikus (Dewantari dkk, 2015).

#### 4.6.6 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada hari ke-8 dengan melakukan eutanasi tikus menggunakan metode dislokasi leher. Selanjutnya dilakukan pembedahan untuk mengeksisi kulit tikus. Pembedahan dilakukan pada daerah *flank* dengan meletakkan tikus pada posisi rebah sinister. Kulit disekitar luka bakar dipegang menggunakan pinset kemudian kulit dipotong menggunakan gunting mengelilingi luka. Sampel kulit yang diperoleh disimpan dalam *buffer* formalin netral 10% pada pot organ untuk pembuatan preparat histopatologi dan imunohistokimia (Isrofa dkk, 2015)

#### 4.6.7 Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit

Sampel kulit difiksasi dengan merendam sampel menggunakan formalin 10% selama 24 jam. Setelah fiksasi selesai, jaringan dimasukkan ke dalam larutan akuades selama 1 jam untuk menghilangkan larutan fiksasi yang tersisa. Selanjutnya jaringan didehidrasi bertahap menggunakan alkohol dengan konsentrasi bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%, dan alkohol absolut). Perendaman pada masing-masing konsentrasi dilakukan selama 2 jam. Dehidrasi jaringan

dilakukan untuk menghilangkan cairan yang terdapat dalam jaringan yang telah difiksasi (Pratiwi, 2015). Selanjutnya proses *clearing* atau sampel dijernihkan menggunakan xylol I dan xylol II selama 2 jam yang bertujuan untuk menghilangkan alkohol dan parafin. Setelah penjernihan, dilakukan infiltrasi parafin ke dalam pori-pori atau ruangan di jaringan menggunakan parafin cair selama 1 jam. Selanjutnya dilakukan proses *embedding* dan *blocking* dengan memindahkan jaringan kedalam blok parafin. Pembuatan blok jaringan bertujuan untuk menjaga bagian jaringan agar tetap pada posisinya (Muntiha, 2001). Blok jaringan yang telah didinginkan kemudian dilakukan pemotongan menggunakan mikrotom dengan tebal 3-4  $\mu\text{m}$ . Pemotongan dilakukan dalam air hangat bersuhu 46°C dan selanjutnya diletakkan pada kaca obyek. Sebelum siap untuk diwarnai, kaca obyek dimasukkan kedalam inkubator bersuhu 60°C. Setelah preparat kulit kering, jaringan diwarnai menggunakan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE) untuk melihat adanya sel neutrofil pada sampel (Mulyono, 2009).

Penghitungan jumlah sel neutrofil dilakukan pada sediaan histopatologi menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x dan dilakukan pada 5 lapang pandang (Zayyan dkk, 2016). Penggunaan aplikasi Image Raster 3.0 dilakukan untuk membantu penghitungan pada sel neutrofil.

#### 4.6.8 Ekspresi IL-6 dengan Metode Imunohistokimia

Pewarnaan dengan metode imunohistokimia diawali dengan melakukan deparafinisasi pada preparat kulit yaitu proses penghilangan parafin pada jaringan menggunakan cairan xylol, alkohol absolut, alkohol bertingkat (100%, 90%, 80%, 70%) dan air. Selanjutnya preparat dicuci dengan akuades dan PBS pH 7,4 sebanyak 3 kali selama 5 menit, kemudian direndam dalam hidrogen peroksida atau H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> selama 45 menit dan dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 sebanyak 3 kali selama 5 menit. Setelah itu preparat diblok dengan *blocking serum* dalam PBS selama 1 jam. Selanjutnya preparat diinkubasi semalam pada suhu 4°C dengan antibodi primer *rabbit anti-rat IL-6*. Setelah diinkubasi, preparat dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali selama 5 menit. Selanjutnya preparat diinkubasi kembali dengan antibodi sekunder selama 30 menit (Milagres, 2009).

Preparat yang telah diinkubasi selanjutnya dicuci dengan larutan PBS dan ditambahkan pewarna diamino benzidine (DAB selama 10-20 menit pada suhu ruang dan selanjutnya dicuci dengan akuades untuk menghentikan pewarnaan dan selanjutnya dilakukan pewarnaan dengan pewarna Mayer's hematoksilin lalu dicuci dengan air mengalir (Suker, 2017). Preparat selanjutnya *dimounting* lalu ditutup dengan *cover glass* (Hacham *et al*, 2004).

Pengamatan ekspresi IL-6 dilakukan pada 5 lapang pandang dengan perbesaran 400x melalui mikroskop. Pengukuran presentase area ekspresi IL-6 dengan menggunakan foto preparat imunohistokimia yang diunggah pada *software immunoratio* (Hosaka, 2017).

#### 4.6.9 Analisis Data

Analisis data dilakukan secara kuantitatif menggunakan *software* IBM SPSS *ver. 24 for Windows*. Analisa data secara statistik dengan uji T independen untuk menentukan ada tidaknya perbedaan respon yang bermakna antara kedua perlakuan ( $\alpha=0,05$ ) (Awan, 2014).



## BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

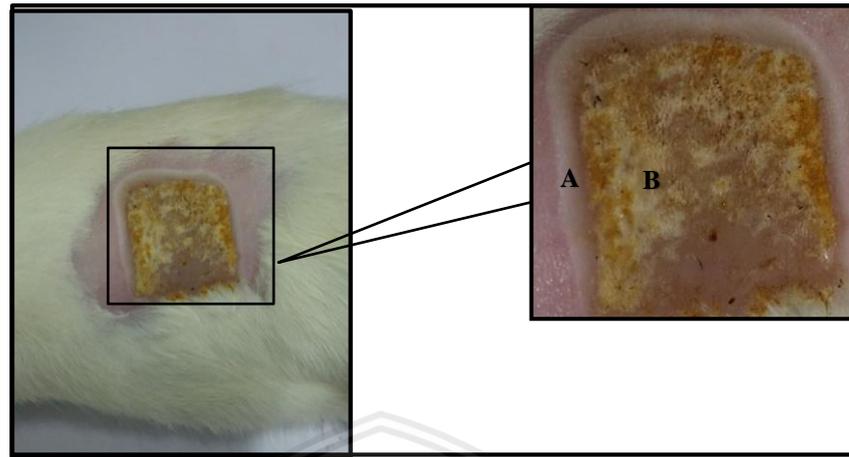
### 5.1 Gambaran Makroskopis Hasil Terapi Salep VCO dan Sediaan Topikal Ekstrak Plasenta terhadap Luka Bakar derajat II-B pada Kulit Tikus

Kulit tikus yang diinduksi luka bakar dengan menempelkan solder panas selama 10 detik memberikan perubahan pada gambaran makroskopis kulit. Pada gambaran makroskopis kulit terdapat perubahan warna yang nampak menjadi pucat dan kecoklatan pada beberapa bagian. Perubahan warna ini terjadi akibat adanya paparan suhu tinggi sehingga menimbulkan kematian jaringan atau nekrosis (**Gambar 5.1.1**). Pada tepian kulit tikus terjadi pembengkakan kecil yang berisi cairan akibat adanya peningkatan permeabilitas kapiler sehingga menimbulkan penumpukan cairan yang berlebihan pada sekitar luka. Kulit tikus setelah diinduksi menunjukkan beberapa area rambut sisa pencukuran yang terbakar dan kulit yang mengalami nekrosis menunjukkan warna putih pucat dan tidak terdapat lapisan kulit yang mengeras atau eskar.

Setelah dilakukan terapi selama 4 hari sejak induksi, gambaran makroskopis kulit menunjukkan perubahan yang relatif sama untuk kedua perlakuan. Pada kedua perlakuan terlihat mulai terjadi pembentukan lapisan kulit yang mengeras dan menebal (eskar) serta terjadi pertumbuhan rambut baru disekitar area luka. Zona statis merupakan area yang berbatasan langsung dengan zona koagulasi yang masih terdapat aliran darah dalam jumlah sedikit, sedangkan zona koagulasi adalah area yang berada ditengah luka dengan kerusakan yang paling parah dan berisi jaringan mati (Prasetyono, 2016). Terlihat pada zona statis kelompok P1 (**Gambar 5.1.2.P1**)

nampak berwarna kemerahan, hal ini menunjukkan masih adanya respon inflamasi dan masih terdapat aliran darah sehingga memicu infiltrasi sel radang, sedangkan pada kelompok P2 pada zona statis nampak berwarna kecoklatan yang menyerupai dengan zona koagulasi (**Gambar 5.1.2.P2**). Warna kecoklatan ini menunjukkan bahwa fase inflamasi telah masuk pada fase akhir dan mulai memasuki fase awal proliferasi. Keberadaan eskar yang mulai muncul pada hari ke-4 juga merupakan proses awal fase proliferasi dalam proses penyembuhan luka (Balqis, 2016), selain itu pembengkakan cairan pada tepi kulit akan mulai menghilang secara bertahap pada hari ke-4 (Guo, 2017).

Pada hari ke-7 setelah terapi, perubahan luka pada kelompok P1 (**Gambar 5.1.3.P1**) relatif sama dengan kelompok P2. Pada kedua perlakuan tampak warna mulai merata dan warna kecoklatan dengan eskar yang mulai lebih mengeras. Eskar masih tampak jelas dan belum terjadi perubahan ukuran luka. Hal ini relatif sesuai berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Guo (2017) yang menunjukkan luka bakar akan mengalami pembentukan eskar yang lebih keras pada awal hari ke-7 yang akan menutupi permukaan luka dan adanya migrasi fibroblas pada proses penyembuhan luka. Pada area luka terlihat berwarna kecoklatan yang rata dan terdapat bagian dengan warna putih kecoklatan yang merupakan sisa rambut yang ikut terbakar ketika induksi luka (**Gambar 5.1.3.P2**). Selain itu, pertumbuhan rambut-rambut halus mulai tampak lebih banyak dibandingkan dengan hari ke-4 baik pada kelompok P1 ataupun P2.



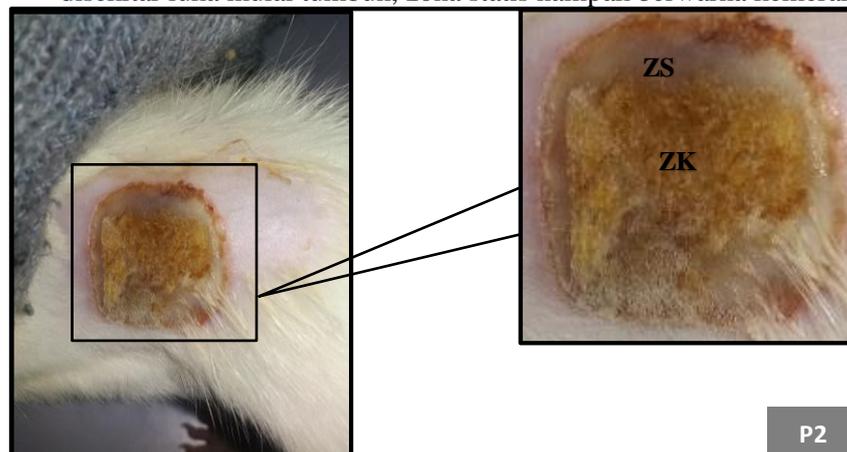
**Gambar 5.1.1.** Gambaran makroskopis kulit tikus setelah induksi luka bakar.

**Keterangan:** (A) Pembengkakan pada tepi kulit  
(B) Kematian jaringan (nekrosis)

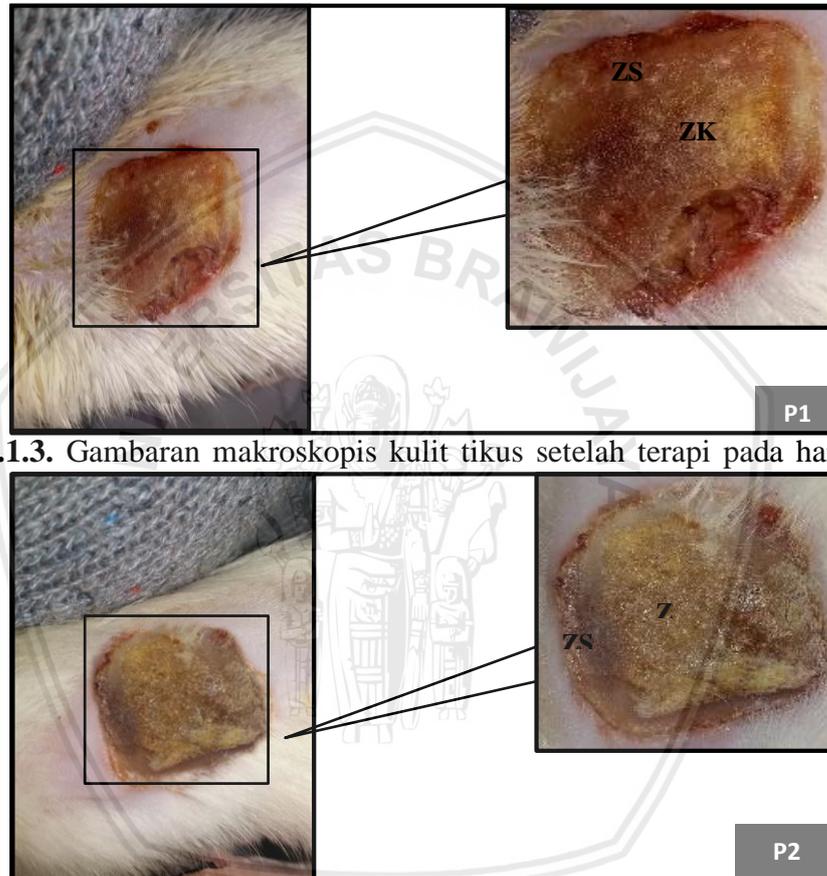


**Gambar 5.1.2.** Gambaran makroskopis kulit tikus setelah terapi pada hari ke-4 (ZK: Zona koagulasi, ZS: Zona statis).

**Keterangan:** (P1) Kelompok terapi salep VCO, nampak terbentuk eskar, rambut disekitar luka mulai tumbuh, zona statis nampak berwarna kemerahan.



(P2) Kelompok terapi sediaan topikal ekstrak plasenta, nampak terbentuk eskar, rambut disekitar luka mulai tumbuh, zona statis nampak berwarna kecoklatan.



**Gambar 5.1.3.** Gambaran makroskopis kulit tikus setelah terapi pada hari ke-7

(ZK: Zona koagulasi, ZS: Zona statis).

**Keterangan:** (P1) Kelompok terapi salep VCO, masih terdapat eskar pada luka, tampak pertumbuhan rambut disekitar luka.

(P2) Kelompok terapi sediaan topikal ekstrak plasenta, masih terdapat eskar pada luka, tampak pertumbuhan rambut pada zona koagulasi.

## 5.2 Perbedaan Efek Terapi Salep VCO dengan Sediaan Topikal Ekstrak Plasenta pada Luka Bakar Kulit Tikus Berdasarkan Ekspresi IL-6

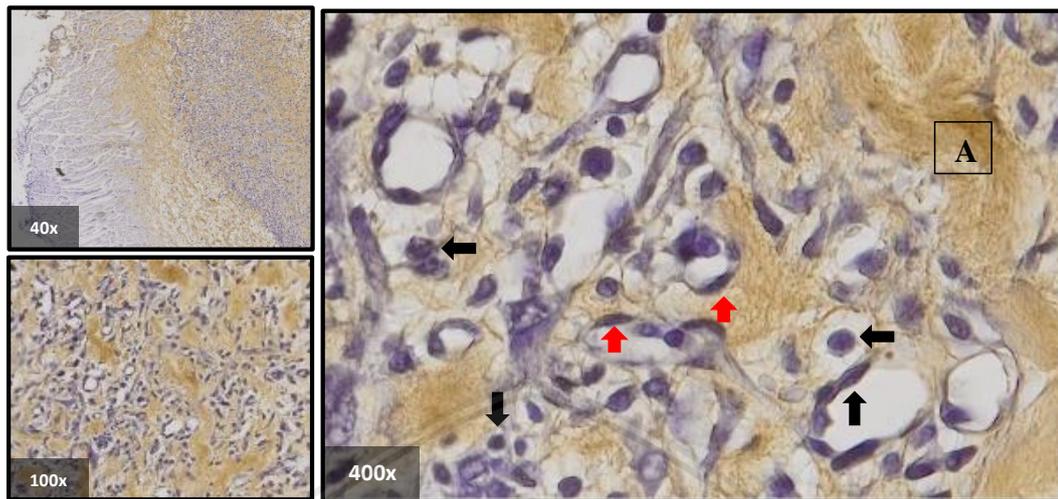
Interleukin 6 (IL-6) merupakan sitokin yang berperan dalam fase inflamasi awal. Sumber utama dari IL-6 berasal dari berbagai jenis sel seperti makrofag, fibroblas, keratinosit dan sel endotel (Werner, 2007). Produksi berlebihan dari sitokin IL-6 menandakan terjadinya inflamasi. Sitokin IL-6 memiliki fungsi dalam pengaturan sistem imun seperti dalam diferensiasi neutrofil dan monosit serta mempengaruhi kerja sitokin lain dan kemokin yang bekerja pada fase inflamasi hingga proliferasi (Gabay, 2006).

Pengukuran ekspresi IL-6 dilakukan berdasarkan adanya reaksi antara antigen dan antibodi melalui metode imunohistokimia. Melalui metode ini, substansi atau bahan aktif jaringan akan diwarnai menggunakan prinsip adanya pengikatan terhadap antigen (bahan aktif) pada sisi aktif spesifik oleh suatu antibodi (anti bahan aktif). Ekspresi IL-6 yang didapatkan adalah hasil dari interaksi antara IL-6 jaringan dengan antibodi yang ditambahkan antibodi primer *rabbit anti-rat IL-6* dan antibodi sekunder *rat anti-rabbit*. Interaksi tersebut menghasilkan ikatan kompleks antigen-antibodi yang dikenali HRP (*horseradish peroxidase*) yang akan terwarnai oleh enzim DAB (*diaminobenzidine*) sehingga memunculkan warna kecoklatan pada preparat (Bintari, 2016). Ekspresi IL-6 pada preparat kulit tikus diamati dengan menggunakan metode imunohistokimia dan dihitung prosentase ekspresi IL-6 menggunakan aplikasi *Immunoratio* melalui perbedaan prosentase warna coklat yang terbentuk.

Gambaran ekspresi IL-6 pada preparat histopatologi kulit tikus menunjukkan perbedaan prosentase warna coklat pada area induksi luka bakar yang terletak pada sitoplasma sel radang. Selain pada sitoplasma sel radang, ekspresi IL-

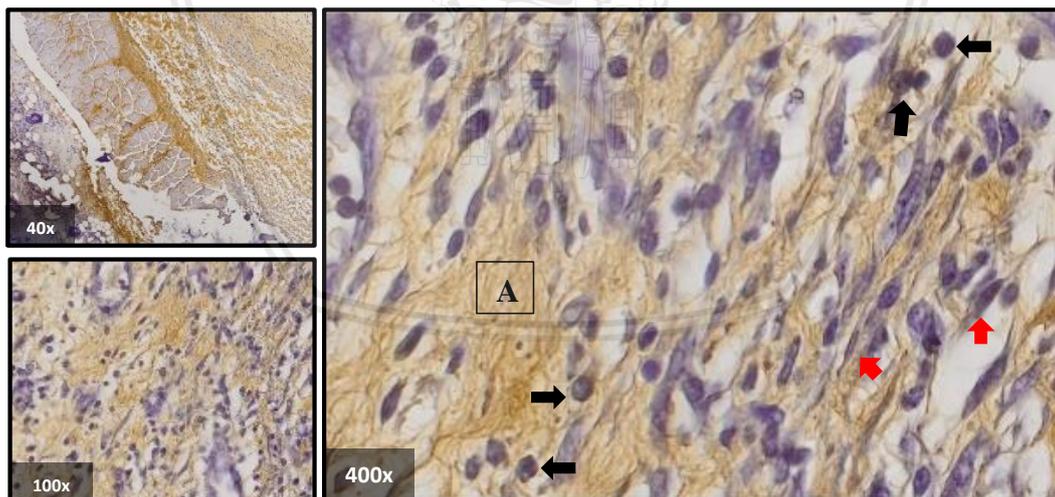
6 dapat teramati pada fibroblas, sel endotel dan keratinosit. Pada luka bakar derajat II-B terjadi kerusakan pada lapisan kulit hingga dermis bagian dalam. Kerusakan kulit tersebut menyebabkan sel fibroblas, sel endotel dan keratinosit rusak sehingga mengekspresikan IL-6 terutama pada fase inflamasi hingga proliferasi awal.

Pada kelompok P1 ekspresi IL-6 hadir dalam jumlah yang lebih rendah dari kelompok P2 pada area dermis yang ditunjukkan dengan sedikitnya area yang terwarnai oleh warna coklat. Rendahnya ekspresi IL-6 menunjukkan proses inflamasi bekerja optimal sehingga tidak menimbulkan inflamasi berkepanjangan. Menurut Polverini (2002), fase inflamasi yang berlangsung lebih cepat akan mencegah makrofag dan kerusakan jaringan terus melepaskan IL-6 yang mempengaruhi proses inflamasi melalui penarikan sel radang dan eliminasi patogen. Maka dari itu, ekspresi IL-6 yang rendah menandakan bahwa proses inflamasi akan berakhir dan dapat segera memasuki fase proliferasi untuk mendukung re-epitelisasi. Pada saat transisi menuju fase proliferasi awal, jumlah sel fibroblas yang diproduksi masih rendah sehingga produksi IL-6 oleh fibroblas juga tidak mengalami peningkatan.



**Gambar 5.2.1.** Ekspresi IL-6 pada kulit tikus kelompok P1 setelah terapi pada hari ke-7 dengan metode Imunohistokimia.

**Keterangan:** ↑ : ekspresi IL-6  
 ↑ : fibroblas  
 A : kolagen



**Gambar 5.2.2.** Ekspresi IL-6 pada kulit tikus kelompok P2 setelah terapi pada hari ke-7 dengan metode Imunohistokimia.

**Keterangan:** ↑ : ekspresi IL-6  
 ↑ : fibroblas  
 A : kolagen

Selanjutnya data rata-rata yang diperoleh diolah menggunakan aplikasi IBM SPSS *ver.* 24. Data kemudian dilakukan uji normalitas yang digunakan untuk menguji sampel apakah sampel penelitian merupakan jenis distribusi normal pada kedua variabel (**Lampiran 9**). Data dikatakan berdistribusi normal dengan kriteria angka  $p > 0,05$  (Setyani, 2016). Berdasarkan uji normalitas, distribusi data bersifat normal karena menunjukkan angka  $p > 0,05$ , setelah itu data diolah untuk dilakukan uji T independen (**Lampiran 9**).

Setelah dilakukan uji T independen, pada **Tabel 5.1**. dapat diketahui ekspresi IL-6 pada sampel kulit kelompok P1 dengan terapi salep VCO memiliki hasil rata-rata  $65,8044 \pm 7,78441$  dan pada sampel kulit kelompok P2 dengan terapi sediaan topikal ekstrak plasenta memiliki hasil rata-rata  $69,7311 \pm 8,25028$ . Pada uji T independen diperoleh nilai  $p > 0,05$  pada kedua kelompok perlakuan (**Lampiran 9**). Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kedua kelompok perlakuan sehingga dapat dikatakan kedua terapi memiliki respon yang relatif sama terhadap ekspresi IL-6. Rata-rata ekspresi IL-6 pada kulit tikus kelompok P1 menunjukkan hasil yang lebih rendah apabila dibandingkan dengan kelompok P2. Hal ini disebabkan karena proses inflamasi yang berkerja optimal sehingga respon inflamasi tidak berlangsung lebih lama. Pada respon inflamasi yang berkepanjangan, makrofag akan terus melepaskan IL-6 yang mempengaruhi inflamasi melalui penarikan sel-sel radang sehingga akan terus terjadi akumulasi sel radang dalam mengeliminasi patogen. Sehingga dengan rendahnya ekspresi IL-6 ini dapat menandakan bahwa luka telah memasuki fase inflamasi akhir dan segera menuju fase proliferasi awal (Balqis, 2016).

**Tabel 5.1.** Rata-Rata Prosentase Ekspresi IL-6 pada Kulit Tikus

<b>Kelompok</b>	<b>Rata-rata Prosentase Ekspresi IL-6 ± SD</b>	<b>Sig. (2-tailed)</b>
P1 (salep VCO)	65,8044 ± 7,78441	0,314
P2 (sediaan topikal ekstrak plasenta)	69,7311 ± 8,25028	

Penurunan ekspresi IL-6 dipengaruhi oleh kandungan yang dimiliki VCO yaitu *phytosterol* dan flavonoid yang bersifat sebagai antiinflamasi. Sebagai antiinflamasi, *phytosterol* memiliki mekanisme kerja yang mampu menekan produksi asam arakidonat pada jalur siklooksigenase dan lipoksigenase. Pada proses inflamasi, adanya kerusakan membran sel akan menginduksi fosfolipid dan asam arakidonat untuk mengaktifkan makrofag. Produksi asam arakidonat yang berkurang akan menurunkan aktifitas dari makrofag untuk menghasilkan sitokin proinflamasi, seperti pada IL-6 (Mansjoer, 2003). Menurut Varma (2017), penghambatan produk hasil bakteri seperti lipopolisakarida pada jalur siklooksigenase saat proses inflamasi juga dapat menurunkan produksi sitokin proinflamasi salah satunya ialah IL-6.

Kandungan flavonoid yang dimiliki oleh VCO bersifat sebagai antiinflamasi dengan cara menghambat eicosanoid untuk mensintesis enzim fosfolipase A2, siklooksigenase dan lipoksigenase. Penghambatan enzim-enzim tersebut dapat menurunkan produksi prostanoide serta leukotrien melalui siklus asam arakidonat, maka dari itu produksi sitokin IL-6 berkurang (Rathee, *et al.*, 2009). Selain itu, VCO memiliki kandungan asam lemak tak jenuh seperti asam linoleat

dan asam oleat yang diketahui mampu menurunkan produksi sitokin IL-6 melalui penghambatan mekanisme siklus asam arakidonat (Landen *et al.*, 2016). Penurunan ekspresi IL-6 ini menyebabkan proses inflamasi dapat segera memasuki fase proliferasi sehingga tidak menimbulkan inflamasi berkepanjangan (Lima *et al.*, 2009). Pada hari ke-7 setelah induksi luka bakar, fase kesembuhan luka memasuki fase transisi dari fase inflamasi ke fase proliferasi awal. Hal ini berkaitan terhadap penurunan jumlah sel radang sehingga mempengaruhi penurunan ekspresi IL-6. Masuknya fase proliferasi ditandai dengan hilangnya neutrofil melalui apoptosis dan mulai teraktivasi makrofag sebagai sistem pertahanan tubuh (Kaplanski, 2003). Pada fase proliferasi awal terdapat pembentukan sel-sel fibroblas baru yang juga dapat mengekspresikan IL-6 namun, fibroblas yang terbentuk pada hari ke-7 ini tidak sebanyak apabila pada fase proliferasi aktif sehingga jumlah IL-6 tidak mengalami peningkatan.

Proses penyembuhan luka dipengaruhi oleh banyak faktor yang mempengaruhi, salah satunya ialah kontaminasi bakteri yang berlebihan. Luka akan rentan terhadap risiko infeksi dan dapat terjadi kontaminasi apabila kolonisasi bakteri yang berlebih pada luka. Terjadinya infeksi akan menghambat proses kesembuhan luka (Prasetyono, 2016). Keberadaan bakteri yang berlebihan akan menimbulkan peningkatan sistem pertahanan pertama pada tubuh untuk mengeliminasi bakteri dari lokasi luka. Pada saat eliminasi patogen, sel-sel imun akan memproduksi ROS untuk membantu kerjanya. VCO memiliki sifat sebagai antimikroba dengan kandungan asam lemak rantai sedang yang dimilikinya seperti asam laurat, asam kaproat dan asam kaprilat (Dumancas *et al.*, 2016). Sifat

antimikroba VCO mampu menghancurkan membran lipid bakteri sehingga akan mengganggu biosintesis bakteri. Penurunan jumlah bakteri akan mempengaruhi produksi sitokin proinflamasi IL-6 melalui penurunan jumlah sel-sel radang (Eming *et al.*, 2007).

Kemampuan sel-sel radang seperti makrofag dan neutrofil dalam mengeliminasi patogen pada kasus luka bakar akan menghasilkan radikal bebas seperti ROS. Pengaktifan senyawa ROS dapat menimbulkan kondisi inflamasi melalui siklus asam arakidonat sehingga proses penyembuhan luka menjadi lebih lama. Senyawa ROS yang terbentuk dalam jumlah yang berlebihan menyebabkan inflamasi yang terus berlangsung sehingga dapat memicu kematian dan kerusakan sel jaringan yang normal. Proses detoksifikasi senyawa ROS selama proses penyembuhan luka dilakukan oleh antioksidan enzimatik seperti superoksida dismutase (SOD), *peroxiredoxin* (PRDX), *glutathione peroxidase* (GPX), dan katalase serta oleh antioksidan non-enzimatik seperti vitamin E, vitamin C, senyawa fenolik, dan karotenoid (Kurahasi and Fujii, 2015). Ketika tubuh tidak dapat menyeimbangkan radikal bebas, maka tubuh membutuhkan antioksidan tambahan untuk menangkap kelebihan radikal bebas tersebut. Tokoferol atau vitamin E dalam kandungan yang dimiliki VCO merupakan antioksidan alami dan tergolong dalam antioksidan sekunder non-enzimatik yang memiliki fungsi kerja menangkap radikal bebas agar tidak kembali bereaksi dengan komponen seluler dan memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas (Sayuti dan Yenrina, 2015). Antioksidan dapat menurunkan sitokin proinflamasi IL-6 dengan menstabilkan

radikal bebas yang berada pada area luka melalui penghambatan *nuclear factor-κB* (NF-κB) (Djuanda dkk., 2012).

Pada sampel kulit kelompok P2, didapatkan hasil ekspresi IL-6 yang lebih tinggi dari kelompok P1. Tingginya ekspresi IL-6 ini dipengaruhi oleh adanya induksi luka bakar yang diberikan pada kulit tikus sehingga menimbulkan respon inflamasi dan akibat infiltrasi dari sel-sel imun dalam melindungi tubuh. Kehadiran IL-6 akan mempengaruhi proses inflamasi melalui pengaturan terhadap sel-sel imun, sitokin dan kemokin. Bersama dengan TNF- $\alpha$ , IL-6 yang dihasilkan oleh sel fibroblas, sel endotel dan keratinosit yang rusak akan memproduksi berbagai macam kemokin untuk menarik neutrofil pada fase awal inflamasi sehingga membantu proses fagositosis dan debris jaringan mati pada area luka (Scheller, 2011).

Pada kasus luka bakar, kehadiran sitokin IL-6 akan berperan dalam menjaga serta menginduksi inflamasi pada jaringan kulit sehingga membuat fase inflamasi berlangsung lebih aktif (Kim and Kim, 2017). Selain itu, peningkatan jumlah ekspresi IL-6 juga dipengaruhi oleh mulai hadirnya makrofag pada luka yang menandakan bahwa luka sedang memasuki awal fase proliferasi. Pada fase proliferasi terjadi pembentukan epitel baru yang lebih aktif sehingga memproduksi banyak sel fibroblas yang dapat meningkatkan ekspresi IL-6 pada luka. Terapi yang diberikan pada kelompok P2 dapat mempersingkat fase inflamasi sehingga luka dapat cepat memasuki fase proliferasi. Hal ini dikarenakan kandungan berbagai asam amino dan faktor pertumbuhan dari ekstrak plasenta mampu mempengaruhi

re-epitelisasi melalui peningkatan pembentukan sel fibroblas dan migrasi keratinosit. Pada fase proliferasi ini juga terjadi peningkatan aktivasi makrofag sehingga jumlah ekspresi IL-6 mengalami peningkatan.

Aktivitas antiinflamasi yang dimiliki oleh sediaan topikal ekstrak plasenta bekerja dengan menekan jalur siklooksigenase sehingga menghambat produksi prostaglandin. Kandungan ekstrak plasenta yang bersifat sebagai antiinflamasi bersumber pada membran amnion seperti *amniotic epithelial cell* (AEC) dan *amniotic mesenchymal stromal cell* (AMSC) (Pan *et al.*, 2017). Selain itu ekstrak plasenta memiliki kandungan antioksidan alami yang dimilikinya berupa asam amino seperti *tyrosine*, *phenylalanine*, dan *tryptophan* yang dapat mendetoksifikasi radikal bebas (Park *et al.*, 2010).

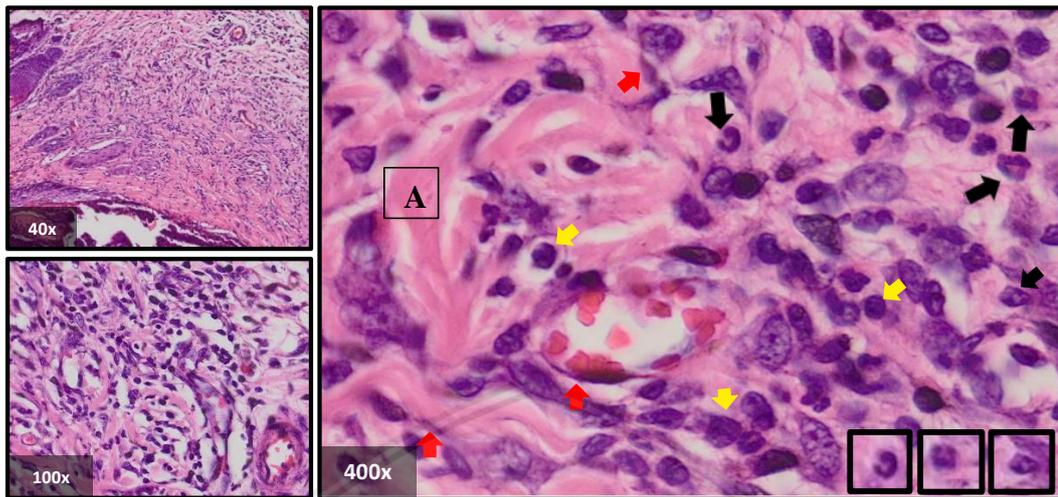
Sediaan topikal ekstrak plasenta memiliki kandungan lain yang bersifat sebagai antibakteri yaitu adanya neomisin sulfat pada sediaan. Kandungan neomisin sulfat pada sediaan merupakan antibiotik yang memiliki spektrum luas dengan mekanisme kerja menghambat biosintesis bakteri sehingga dapat menghentikan pertumbuhan bakteri (Eli, 2014). Tingginya ekspresi IL-6 pada luka bakar akibat peningkatan laju inflamasi dapat ditekan oleh kandungan neomisin sulfat yang terdapat pada sediaan topikal ekstrak plasenta.

### 5.3 Perbedaan Efek Terapi Salep VCO dengan Sediaan Topikal Ekstrak Plasenta pada Luka Bakar Kulit Tikus Berdasarkan Jumlah Sel Neutrofil

Sel neutrofil merupakan sel polimorfonuklear yang memiliki inti terdiri atas 3-5 segmen dan berperan sebagai pelindung pertama bagi tubuh ketika terjadi invasi oleh bakteri. Neutrofil merupakan bagian dari leukosit dengan jumlah yang paling besar dalam sirkulasi. Sebelum masuk ke jaringan, neutrofil memiliki masa hidup kurang dari 7-10 jam pada sirkulasi dan dapat bertahan hidup selama 3 hari hingga lebih apabila telah berpindah ke dalam jaringan. Neutrofil memiliki kemampuan dalam menghilangkan patogen melalui proses fagositosis. Keberadaan patogen pada area luka dapat secara langsung dikenali oleh neutrofil, sehingga proses fagositosis dapat berlangsung secara cepat. Proses penghancuran patogen oleh neutrofil melalui jalur oksigen independen dan jalur oksigen dependen yang menghasilkan metabolit oksigen mikrobisidal (Baratawidjaja, 2014). Keberadaan granula pada sitoplasma neutrofil yang mengandung enzim berperan dalam fagositosis pada jalur oksigen independen, sedangkan pada jalur oksigen dependen neutrofil menghasilkan toksik oksigen seperti hidrogen peroksida dan *nitric oxide* (Wahid, 2016). Granula pada neutrofil berupa granula azurofilik primer yang mengandung enzim lisozim dan enzim mieloperoksidase serta granula sekunder yang mengandung fosfatase alkali, kolagenase dan laktoperferin. Enzim-enzim dari granula ini mampu menghancurkan bahan asing dalam proses fagositosis (Baratawidjaja, 2014).

Jumlah sel neutrofil pada histopatologi kulit tikus diamati melalui preparat yang diwarnai menggunakan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE) dan dihitung





**Gambar 5.3.2.** Jumlah sel neutrofil pada kulit tikus kelompok P2 setelah terapi pada hari ke-7 dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE).

**Keterangan:**    → : neutrofil                      ☆ : makrofag  
                           A : kolagen                                      ▲ : fibroblas

Setelah dilakukan uji T independen, pada **Tabel 5.3.** dapat diketahui jumlah sel neutrofil pada sampel kulit kelompok P1 dengan terapi salep VCO memiliki hasil rata-rata  $3,2222 \pm 0,40552$  dan pada sampel kulit kelompok P2 dengan terapi sediaan topikal ekstrak plasenta memiliki hasil rata-rata  $3,6889 \pm 0,53020$  (**Lampiran 10**). Pada uji T independen diperoleh nilai  $p > 0,05$  pada kedua kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kedua kelompok perlakuan sehingga dapat dikatakan kedua terapi memiliki respon yang relatif sama terhadap jumlah sel neutrofil (**Lampiran 10**).

**Tabel 5.2.** Rata-Rata Jumlah Sel Neutrofil pada Kulit Tikus

<b>Kelompok</b>	<b>Rata-Rata Jumlah Sel Neutrofil <math>\pm</math> SD</b>	<b>Sig. (2-tailed)</b>
P1 (salep VCO)	3,2222 $\pm$ 0,40552	0,52
P2 (sediaan topikal ekstrak plasenta)	3,6889 $\pm$ 0,53020	

Hasil rata-rata jumlah neutrofil kulit tikus pada kedua kelompok menunjukkan angka yang lebih tinggi terjadi pada kelompok P2. Pada kelompok P2 dapat dikatakan bahwa respon inflamasi berlangsung lebih aktif akibat adanya peningkatan jumlah neutrofil pada kulit tikus. Adanya induksi luka bakar akan menimbulkan respon inflamasi, sehingga tubuh akan memberikan perlindungan pertama melalui penarikan sel-sel neutrofil pada area luka. Penarikan sel neutrofil diperlukan untuk mengeliminasi patogen dan debris jaringan dalam proses penyembuhan luka awal (Wahid, 2016).

Pada area luka, sel neutrofil akan melakukan fagositosis patogen dan sisa-sisa jaringan, dalam prosesnya adanya pola kerusakan jaringan DAMP mampu menarik lebih banyak neutrofil ke jaringan luka. Proses fagositosis akan menghasilkan substansi-substansi seperti ROS, *eicosanoid* dan protease dalam jumlah sangat banyak (Eming *et al.*, 2007). Keberadaan substansi dalam jumlah banyak tersebut dapat menimbulkan kerusakan jaringan normal disekitarnya, terutama adanya ROS dan *eicosanoid* yang berperan dalam inflamasi melalui metabolisme asam arakidonat. Sediaan topikal ekstrak plasenta memiliki aktivitas antiinflamasi yang bekerja dengan menekan jalur siklooksigenase sehingga dapat

menghambat produksi prostaglandin. Ekstrak plasenta juga mampu menghambat membran reseptor B1 kinin sehingga akan mengaktivasi pembekuan darah dan mengaktifkan platelet untuk mencegah penyebaran patogen dari area inflamasi melalui aliran darah. Berkumpulnya patogen dengan jumlah banyak yang gagal untuk dieliminasi mengakibatkan respon inflamasi berlangsung lama dan dapat berlanjut menjadi inflamasi kronis (Wahid, 2016). Menurut Chen (2014), ekstrak plasenta dapat menekan respon inflamasi melalui penghambatan produksi ROS yang dihasilkan oleh neutrofil. Selain itu, sediaan topikal ekstrak plasenta memiliki kandungan neomisin sulfat yang merupakan antibiotik golongan aminoglikosida dengan spektrum luas yang memiliki mekanisme kerja dengan menghambat sintesis protein melalui pengikatan terhadap 30s subunit ribosom bakteri, sehingga dapat menghentikan pertumbuhan bakteri (Eli, 2014).

Keberadaan jumlah sel neutrofil yang lebih banyak pada kelompok P2 ini menandakan bahwa aktifnya fase inflamasi, karena pada fase inflamasi keberadaan sel neutrofil sangat dibutuhkan untuk fagositosis dan debris jaringan serta akumulasi makrofag nantinya akan hadir untuk menggantikan peran neutrofil ketika luka memasuki awal fase proliferasi (Thiruvoth, 2015). Jumlah sel neutrofil yang tinggi pada kelompok P2 ini dipengaruhi oleh sediaan topikal ekstrak plasenta yang diketahui lebih efektif berperan pada fase proliferasi dibandingkan pada fase inflamasi. Hal ini dikarenakan ekstrak plasenta mengandung banyak faktor pertumbuhan yang dapat menstimulasi fibroblas untuk memproduksi kolagen sehingga mampu meningkatkan re-epitelisasi pada fase proliferasi (Pan, 2017).

Rata-rata jumlah sel neutrofil pada kulit tikus kelompok P1 menunjukkan nilai yang lebih rendah ketika dibandingkan dengan kelompok P2. Hal ini menunjukkan bahwa respon inflamasi pada kelompok P1 berlangsung lebih singkat yang dapat ditandai dengan adanya penurunan jumlah sel neutrofil pada luka bakar. Singkatnya fase inflamasi ini dipengaruhi oleh kandungan-kandungan VCO yang berperan lebih aktif pada fase inflamasi sehingga dapat mempengaruhi penurunan jumlah sel neutrofil dan mempercepat luka untuk memasuki fase proliferasi melalui penghambatan siklus asam arakidonat. Jumlah sel neutrofil yang menurun akan mempengaruhi penurunan produksi ROS sehingga efek kerusakan jaringan lebih sedikit. Kerusakan jaringan akan mengaktifasi siklus asam arakidonat dalam menghasilkan berbagai macam prostanooid dan leukotrien yang berpengaruh pada penarikan sel-sel radang dan mediator inflamasi pada area luka. Adanya penghambatan pada siklus asam arakidonat ini akan mencegah inflamasi berkepanjangan sehingga luka dapat segera memasuki fase proliferasi. Penurunan jumlah sel neutrofil menandakan luka telah memasuki fase inflamasi akhir dan menuju fase proliferasi awal yang ditandai dengan penghilangan neutrofil dan akan digantikan oleh makrofag (Thiruvoth, 2015). Selain sebagai pengganti dari neutrofil, keberadaan makrofag merupakan penanda bahwa luka telah memasuki fase proliferasi.

VCO memiliki kandungan yang dapat mempengaruhi penurunan jumlah sel neutrofil pada luka bakar. Asam lemak tak jenuh pada VCO yaitu asam linoleat dan asam oleat memiliki mekanisme kerja sebagai antiinflamasi dengan menginduksi mediator lipid seperti *lipoxins*, *resolvins*, dan *protectins*. Adanya kerusakan

jaringan akan menghasilkan produk *eicosanoid* seperti prostaglandin dan leukotrien yang dapat menginduksi mediator lipid melalui proses *lipid-mediator class switching*. Mediator lipid dapat secara selektif menghentikan infiltrasi sel neutrofil serta meningkatkan penarikan monosit dan fagositosis dari makrofag (Landen *et al.*, 2016). Selain itu, kandungan *phytosterol* dapat mempengaruhi sel neutrofil melalui penghambatan siklus asam arakidonat melalui jalur siklooksigenase dan lipoksigenase. Kandungan flavonoid sebagai antiinflamasi dan antioksidan mampu menghambat akumulasi leukosit termasuk neutrofil dan menghambat degranulasi neutrofil. Menurut Tordera *et al.* (2017) kandungan flavonoid dapat mempengaruhi neutrofil dalam memproduksi ROS dengan cara penghambatan terhadap protein kinase C. Adanya penghambatan tersebut akan mengganggu aktivasi NADPH oksidase yang diperlukan untuk fagositosis sehingga proses inflamasi serta kerusakan jaringan akibat radikal bebas dapat berkurang.

Kandungan fungsional VCO yang lebih kompleks dalam menekan laju inflamasi membuat ekspresi IL-6 dan jumlah sel neutrofil pada kelompok P1 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok P2 yang diterapi dengan sediaan topikal ekstrak plasenta. Hal ini diperkuat dengan hasil uji T independen yang menunjukkan kelompok P1 memiliki perbedaan yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) terhadap kelompok P2 (**Lampiran 10**). Kandungan kompleks VCO yang bersifat sebagai antiinflamasi, antimikroba dan antioksidan mampu menghambat mediator-mediator kimia pada fase inflamasi sehingga proses inflamasi dapat lebih cepat berakhir dan memasuki fase proliferasi.

## BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang telah disampaikan, maka dapat diambil kesimpulan:

1. Terapi salep VCO pada luka bakar derajat II-B memberikan respon yang sama dengan sediaan topikal ekstrak plasenta berdasarkan ekspresi interleukin 6 (IL-6) pada kulit tikus (*Rattus norvegicus*).
2. Terapi salep VCO pada luka bakar derajat II-B memberikan respon yang sama dengan sediaan topikal ekstrak plasenta berdasarkan jumlah sel neutrofil pada kulit tikus (*Rattus norvegicus*).

### 6.2 Saran

Saran yang dapat diberikan yaitu perlu adanya penelitian lebih lanjut menggunakan parameter lain untuk mengkaji kesembuhan luka pada luka bakar derajat II-B yang diterapi dengan salep VCO (*Virgin Coconut Oil*) dan sediaan topikal ekstrak plasenta sebagai *gold standart* dengan jangka waktu terapi hingga menutupnya luka.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdeldjelil, M. C., A. Messai, A. Boudebza and S. Beghoul. 2017. Practical Aspects to Generate Cutaneous Experimental Burns In A Rat Model. *Der Pharma Chemica*, 9(1):59-67.
- Ahmad, Z., R. Hasham, N. F. Aman Nor and R. Sarmidi. 2015. Physico-Chemical and Antioxidant Analysis of Virgin Coconut Oil Using West African Tall Variety. *Journal of Advanced Research in Materials Science*, 13(1):1-10.
- Ahmad, Z., M. R. Sarmidi and R. Hasham. 2017. Evaluation of Wound Closure of *Cocoss nucifera* Oil on Scratched Monolayer of Human Dermal Fibroblast. *Chemical Engineering Transactions*. 56, 1657-1662.
- Akbari, H., M. J. Fatemi, M. Iranpour, A. Khodarahmi, M. Baghaee, M. S. Pedram, S. Saleh and S. Araghi. 2015. The Healing Effect of Nettle Extract on Second Degree Burn Wounds. *World J Plast Surg*. 4(1):23-28.
- Alexandru, I. 2011. Experimental Use of Animals in Research Spa. *Balneo-Research Journal*. 2(1).
- Awan, S. A., N. Astuti, A. Bukhari, M. Mahendradatta dan A. B. Tawali. 2014. Manfaat Suplementasi Ekstrak Ikan Gabus Terhadap Kadar Albumin, MDA Pada Luka Bakar Derajat II. *JST Kesehatan*. 4(4):385-393.
- Balqis, U., D. Masyitha dan F. Febrina. 2014. Proses Penyembuhan Luka Bakar Dengan Gerusan Daun Kedondong (*Spondias dulcis F.*) Dan Vaseline Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Secara Histopatologis. *Jurnal Medika Veterinaria*, 8(1):9-14.
- Balqis, U., Frengky, N. Azzahrawani, Hamdani, D. Aliza dan T. Armansyah. 2016. Efikasi Mentimun (*Cucumis sativus L.*) Terhadap Percepatan Penyembuhan Luka Bakar (*Vulnus combustion*) Derajat IIB Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Medika Veterinaria*, Vol. 10 No. 2.
- Baratawidjaja, K. G. dan I. Rengganis. 2014. *Imunologi Dasar*, Edisi ke-11. Jakarta: FKUI.
- Bintari, G. I. 2016. Deteksi *Aeromonas hydrophila* pada Ginjal Mencit (*Mus musculus*) dengan Teknik Immunohistokimia [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Badan Standarisasi Nasional [BSN]. 2008. Minyak Kelapa Virgin (VCO). SNI 7381:2008.
- Bueno, V. and O. A. Santanna. 2014. 2.2 -Immunology of The Skin. 52-60.

- Bunman, S., N. Dumavibhat, W. Chatthanawaree and S. Intalaporn. 2017. Burn Wound Healing: Pathophysiology and Current Management of Burn Injury. *The Bangkok Medical Journal*. 13(2): 91-95.
- Chen, C. P., Y. Y. Chen, J. P. Huang and Y. H. Wu. 2014. The Effect of Conditioned Medium Derived from Human Placental Multipotent Mesenchymal Stromal Cells on Neutrophils: Possible Implications for Placental Infection. *Molecular Human Reproduction*, 20(11): 1117-1125.
- Dewantari, D. R. dan N. Sugihartini. 2015. Formulasi dan Uji Aktivitas Gel Ekstrak Daun Petai Cina (*Leucaena glauca, Benth*) Sebagai Sediaan Obat Luka Bakar. *Farmasains* 2(5): 217-222.
- Djuanda, S. R. S., E. Novianto, S. A. Boediardja dan S. W. A. Jusman. 2012. Peran Stres Oksidatif Pada Penuaan Kulit Secara Intrinsik. *MDVI*, 39(3): 127-133.
- Dolgorsuren, Ts., Lkhagvasuren, D. Batsaikhan, T. M. Enkh-Oyun and P. Enkh TUYA. 2017. Biochemical and Pharmacological Study of Biologically Active Preparation of Placenta. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, 6(2):4-7.
- Dumancas, G. G., L. C. K. Viswanath, A. R. De Leon, S. Ramasahayam, R. Maples, R. H. Koralege, U. D. N. Perera, J. Langford, A. Shakir and S. Castles. 2016. Health Benefits of Virgin Coconut Oil. In: *Vegetable Oil: Properties, Uses and Benefits*, Nova Science Publishers, Inc.
- Eli, S., B. Valery, W. Gao, K. Ann, E. G. Meyron-Holtz, D. Ben-Shachar, J. Schacht and T. Baasov. 2014. Designer Aminoglycosides That Selectively Inhibit Cytoplasmic Rather Than Mitochondrial Ribosomes Show Decreased Ototoxicity: A Strategy For The Treatment of Genetic Diseases. *J. Biol. Chem.* 289: 2318.
- Eming, S. A., T. Krieg and J. M. Davidson. 2007. Inflammation In Wound Repair: Molecular and Cellular Mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, Volume 127, 514-525.
- Enoch, S. and P. Patricia. 2004. Cellular, Molecular and Biochemical Differences In The Pathophysiology of Healing Between Acute Wounds, Chronic Wounds and Wounds In The Aged. *World Wide Wounds*.
- Gabay, C. 2006. Interleukin-6 and Chronic Inflammation. *Arthritis Research & Therapy*. 8(2) S3.
- Graham-Brown, R. and T. Burns. 2005. *Lecture Notes on Dermatology Eight Edition*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Gunawan, M. A. 2015. *Statistik Penelitian Bidang Pendidikan, Psikolog dan Sosial*. Yogyakarta: Parama Publishing.

- Guo, S. and L. A. DiPietro. 2010. Factors Affecting Wound Healing. *Journal of Dental Research*. 89(3), 219–229.
- Guo, H. F., R. M. Ali, R. A. Hamid, A. A. Zaini and H. Khaza'ai. 2017. A New Model for Studying Deep Partial-Thickness Burns in Rats. *Intl. J. Burn. Trauma*, 7(6):107-114.
- Hacham, M., R. M. White, S. Argov, S. Segal and R. N. Apte. 2004. Interleukin-6 and Interleukin-10 Are Expressed In Organs of Normal Young and Old Mice. *Eur. Cytokine Netw.*, 15(1):37-46.
- Hanson, A. 2011. Rat Biology: Where Do Different Rat Coat Types Come From?. <http://www.ratbehavior.org/CoatTypes.htm> [06 Mei 2018]
- Hänel, K. H., C. Cornelissen, B. Lüscher and J. M. Baron. 2013. Cytokines and The Skin Barrier. *International Journal of Molecular Sciences*. 14: 6720-6745
- Hastuti, S. 2017. Pengaruh Pemberian VCO (*Virgin Coconut Oil*) Terhadap Stabilitas Salep Ekstrak Etil Asetat Daun Seligi (*Phyllanthus buxifolius Muell. Arg*). *Indonesian Journal On Medical Science*, 4(2):157-163.
- Herndon, D. N. 2017. *Total Burn Care. 5th Edition*. USA: Elsevier Inc. 87-89.
- Hettiaratchy, S. and P. Dziewulski. 2004. Pathophysiology and Types of Burns. *BMJ*. 328:1427-1429.
- Hosaka, K., K. Rojas, H. Z. Fazal, M. B. Schneider, J. Shores, V. Federico, M. McCord, L. Lin and B. Hoh. 2017. Monocyte Chemotactic Protein-1, Interleukin-6, Osteopontin Pathway of Intra-Aneurysmal Tissue Healing. *Stroke AHA Journal*.
- Isrofah, S., dan M. Afandi. 2015. Efektifitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera Cordifolia (Ten) Steenis*) Terhadap Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat 2 Termal Pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus*). *Muhammadiyah Journal of Nursing* 2(2):27-39.
- Jose, L. A. Luka Bakar Sudut Pandang Dermatologi. *Jurnal Widya Medika Surabaya*, 2(2):115-120.
- Junqueira, L. C. and J. Carneiro. 2004. *Histologi Dasar Teks dan Atlas, Edisi 10*. Jakarta: EGC.
- Kabashima, K. 2016. *Immunology of The Skin: Basic and Clinical Science in Skin Immune Responses*. Japan: Springer Japan.
- Kalangi, S. J. R. 2013. Histofisiologi Kulit. *Jurnal Biomedik (JBM)*. 5(3): s12-20.
- Kalbemed.2013.Bioplacenton.<http://www.kalbemed.com/Products/Drugs/Branded/tabid/245/ID/5699/Bioplacenton.aspx>. [21 Januari 2018].

- Kamolz, L. P., M. G. Jeschke, R. E. Horch, M. Küntscher and P. Brychta. 2012. *Handbook of Burns Volume 2: Reconstruction and Rehabilitation*. Hal 47-49. New York: SpringerWien.
- Kapally, S., A. Shirwaikar and A. Shirwaikar. 2015. Coconut Oil- A Review of Potential Applications. *Hygeia.J.D.Med.* 7(2): 34-41.
- Kaplanski, G., V. Marin, F. Montero-Julian, A. Mantovani and C. Farnarier. 2003. IL-6: A Regulator of The Transition From Neutrophil to Monocyte Recruitment During Inflammation. *Trends in Immunology*. 24. 25-9.
- Kim, E. J. And S. H. Kim. 2017. Anti-Inflammatory Effect of Low-Level Laser In Burn Wound Model in Rats. *Phys. Ther. Rehabil. Sci*, 6(4):170-175.
- Kolarsick, P., M. Kolarsick and C. Goodwin. 2011. Anatomy and Physiology of The Skin. *Journal of the Dermatology Nurses' Association*. Wolters Kluwer Health, Inc. Lippincott Williams.
- Kumar, V., K. Nagarajan and A. Abdullah. 2013. Animal Models for The Evaluation of Wound Healing Activity. *International Bulletin of Drug Research*. 3(5): 93-107.
- Kurahasi, T and J. Fuji. 2015. Roles of Antioxidative Enzymes in Wound Healing. *Journal of Deveopmental Biology*, 3, 57-70.
- Kusuma, R. F., R. Ratnawati dan S. Dewi. 2014. Pengaruh Perawatan Luka Bakar Derajat II Menggunakan Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle Linn.*) Terhadap Peningkatan Ketebalan Jaringan Granulasi Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar. *Majalah Kesehatan FKUB*, 1(2):86-94.
- Landen, N. X., D. Li and M. Stahle. 2016. Transition from Inflammation to Proliferation: A Critical Step during Wound Healing. *Cell. Mol. Life Sci.* 73:3861-3885.
- Larasati, W., E. S. Wahyuni dan Y. W. Utami. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Melati (*Jasminum sambac L. Ait*) secara Topikal terhadap Peningkatan Kontraksi Luka Bakar Derajat II A pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. *Majalah Kesehatan FKUB*, 2(4):196-206.
- Lima, C., A. Pereira, J. Silva, L. Oliveira, M. Resck, C. Grechi, M. Bernardes, F. Olimpio, A. Santos, E. Incerpi and J. Garcia. 2009. Ascorbic Acid for The Healing of Skin Wounds in Rats. *Braz J Bio*, 1 69(4), pp 1195-1201.
- Lin, Z. Q., T. Kondo, Y. Ishida, T. Takayasu and N. Mukaida. 2003. Essential Involvement of IL-6 In The Skin Wound-Healing Process as Evidenced by Delayed Wound Healing In IL-6-Deficient Mice. *Journal of Leukocyte Biology*, 73(6):713-721.
- Lin, T. K., L. Zhong and J. L. Santiago. 2017. Anti-Inflammatory and Skin Barrier Repair Effects of Topical Application of Some Plant Oils. *Int. J. Mol. Sci*, 19(70):1-21.

- Lukaszewicz, M., B. Mroczko and M. Szmitkowski. 2017. Clinical Significance of Interleukin-6 (IL-6) As A Prognostic Factor of Cancer Disease. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*. 117(5-6): 247-251.
- Mansjoer, S. 2003. *Mekanisme Kerja Obat Antiradang*. Medan: USU.
- Mann, E. R., K. M. Smith, D. Bernardo, H. O. Al-Hassi, C. Knight and A. L. Hartt. 2012. Review: Skin and The Immune System. *J Clin Exp Dermatol Res* S2:003.
- Mendonça, R. J and J. Coutinho-Netto. 2009. Cellular Aspects of Wound Healing. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 84(3), 257-262.
- Milagres, D., C. R. Rueff-Barroso, A. M. Bolognese, A. M. A. Costa and L. C. Porto. 2009. Immunohistochemical Localization of Tumor Necrosis Factor-Alpha and Interleukin-6 During Orthodontic Movement In Rats. *Braz. J. Morphol. Sci.* 26(1):42-48.
- Millind, P. and Y. Monu. 2013. Laboratory Models for Screening Analgesics. *International Research Journal of Pharmacy*, 4(1):15-19.
- Moenadjat, Y. 2003. *Luka Bakar: Pengetahuan Klinis Praktis*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Monaco, J. L., W. Lawrence and M. P. H. Thomas. 2003. Acute Wound Healing An Overview. *Clin Plastic Surg.* 30, 1-12.
- Monthly Index of Medical Specialities [MIMS]. 2012. *MIMS Indonesia Petunjuk Konsultasi, Edisi 11 2011/2012*. Jakarta: PT. Bhuana Ilmu Populer.
- Muis, A. 2009. Aktivitas Antioksidan dan Antifotooksidan Komponen Minor dari Virgin Coconut Oil (VCO). *Jurnal Riset Industri*, 3(2): 86-93.
- Mulyono, A., Ristiyanto dan N. Soesanti. 2009. Karakteristik Histopatologi Hepar Tikus Got *Rattus norvegicus* Infektif *Leptospira sp.*. *Jurnal Vektora* 1(2):84-92.
- Muntiha, M. 2001. Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi Dari Jaringan Hewan Dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin. *Temu Teknis Fungsional*. 156-163.
- Naseem, S., R. Iqbal and T. Munir. 2016. Role of Interleukin-6 In Immunity: A Review. *International Journal of Life Sciences Research*. 4(2): 268-274.
- Nevin, K. G. and T. Rajamohan. 2010. Effect of Topical Application of Virgin Coconut Oil on Skin Components and Antioxidant Status During Dermal Wound Healing In Young Rats. *Skin pharmacol physiol.* 23:290-297.
- Nielson, C. B., N. C. Duethman, J. M. Howard, M. Moncure and J. G. Wood. 2017. Burns: Pathophysiology of Systemic Complications and Current Management. *J Burn Care Res*, 38:469-481.

- Olena, P., V. Prokopyuk, C. Figueiredo and D. Pogozhykh. 2018. Placenta and Placental Derivatives in Regenerative Therapies: Experimental Studies, History, and Prospects. *Hindawi Stem Cells International*. 2018:1-14.
- OpenStax. 2016. Anatomy & Physiology. OpenStax CNX. <http://cnx.org/contents/14fb4ad7-39a1-4eee-ab6e-3ef2482e3e22@8.24>. [12 April 2018].
- Pan, S. Y., M. K. S. Chan, M. B. F. Wong, D. Klokol and V. Chernykh. 2017. Placental Therapy: An Insight to Their Biological and Therapeutic Properties. *J Med Therap*, 1(3):1-6.
- Park, S. Y., S. Phark, M. Lee, J. Y. Linn and D. Sul. 2010. Anti-Oxidative And Anti-Inflammatory Activities of Placental Extracts In Benzo[a]pyrene-Exposed Rats. *Placenta*, 31:873-879.
- Polverini, P. J and L. A. DiPietro. 2002. Role of The Macrophage In The Positive and Negative Regulation of Wound Neovascularisation. *Am J Pathol* 143:678–84.
- Prasetyono, T. O. H. 2016. *Panduan Klinis Manajemen Luka*. Jakarta: EGC. 66-72.
- Pratiwi, H. C. dan A. Manan. 2015. Teknik Dasar Histologi Pada Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 7(2):153-157.
- Rathee, P., H. Chaudhary, S. Rathee, D. Rathee, V. Kumar and K. Kohli. 2009. Mechanism of Action of Flavonoids as Anti-Inflammatory Agents: A Review. *Inflammation & Allergy-Drug Targets*, 8(3):229-235.
- Reinke, J. M. and H. Sorg. 2012. Wound Repair and Regeneration. *Eur Surg Res*. 49:35-43.
- Richmond, J. M. and J. E. Harris. 2014. Immunology and Skin In Health and Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 4(12):1-20.
- Rowan, M. P., L. C. Cancio, E. A. Elster, D. M. Burmeister, L. F. Rose, S. Natesan, R. K. Chan, R. J. Christy and K. K. Chung. 2015. Burn Wound Healing and Treatment: Review and Advancements. *Critical care*, 19:243.
- Sayuti K. dan R. Yenrina. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press.
- Scheller, J., A. Chalaris, D. Schmidt-Arras and S. Rose-John. 2011. The Pro- and Anti-Inflammatory Properties of The Cytokine Interleukin-6. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1813:878-888.
- Scott, A., K. M. Khan, C. R. Roberts, J. L. Cook and V. Duronio. 2004. What Do We Mean by The Term “Inflammation”? A Contemporary Basic Science Update for Sports Medicine. *British Journal of Sports Medicine*, 38: 372-380.

- Setyani P. dan K. Yuswinda. 2016. Efek Lumatan Daun Pepaya (*Carica Papaya L.*) terhadap Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat II Dangkal pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. *Med. Hasp*, 4(1): 51-56.
- Sharp, P. and J. Villano. 2013. *The Laboratory Animal Pocket Reference Series: The Laboratory Rat Second Edition*. New York: CRC Press.
- Silalahi, J. and C. Surbakti. 2015. Burn Wound Healing Activity of Hidrolized Virgin Coconut Oil. *International Journal of PharmTech Research*. 8(1): 67-73.
- Suker, D. K., I. A. B. Adnan, K. A. Emad and A. B. A. Saad. 2017. Immunohistochemistry Analysis for Interleukin-6 Expression from the Tumor Tissue. *International Journal of Science*, 6(03): 14-24.
- Thiruvoth, F. M., D. P. Mohapatra, D. K. Sivakumar, R. K. Chittoria and V. Nandhagopal. 2015. Current Concepts in The Physiology of Adult Wound Healing. *Plast Aesthet Res*. 2:250-6.
- Tordera, M., M. L. Ferrandiz and M. J. Alcaraz. 2017. Influence of Anti-Inflammatory Flavonoids on Degranulation and Arachidonic Acid Release in Rat Neutrophils. *Z. Naturforsch*, 49c, 235-240.
- Tiwari, V. K. 2012. Burn Wound: How It Differs From Other Wounds?. *Indian J Plast Surg*. 45:364-73.
- Tranggono, R. I. dan F. Latifah. 2007. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Varma, S. R., T. O. Sivaprakasam, I. Arumugam, N. Dilip, M. Raghuraman, K. B. Pavan, M. Rariq and R. Paramesh. 2017. In Vitro Anti-Inflammatory And Skin Protective Properties of Virgin Coconut Oil. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, xxx:1-10.
- Velnar, T., T. Bailey and V. Smrkolj. 2009. The Wound Healing Process: An Overview of The Cellular and Molecular Mechanisms. *J Int Med Res*. 37(5):1528-42.
- Wahid, S. dan U. A. Miskad. 2016. *Imunologi Lebih Mudah Dipahami*. Surabaya: Brilian Internasional.
- Werner, S., T. Krieg and H. Smola. 2007. Keratinocyte-Fibroblast Interactions In Wound Healing. *Journal of Investigative Dermatology*, 127:998-1008.
- Wibowo, D. S. 2008. *Anatomi Tubuh Manusia*. Jakarta: Grasindo.
- Winarsih, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Wirastuty, R.Y. 2016. Uji Efektifitas Gel Ekstrak Etanol Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) Pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) Sebagai Obat

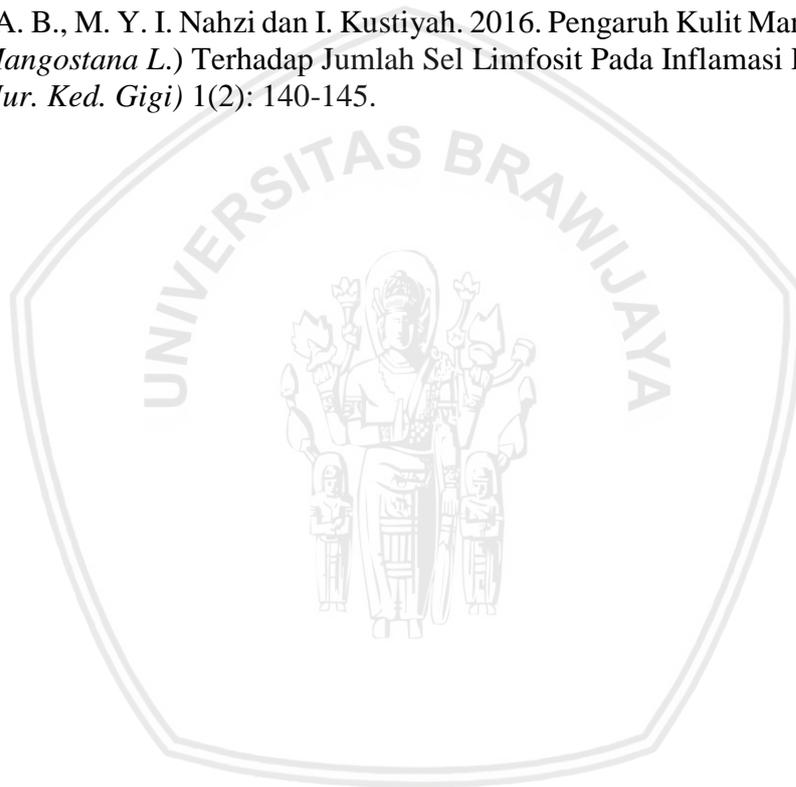
Penyembuhan Luka Bakar. *Journal of Pharmaceutical Science and Herbal Technology*, 1(1):32-35.

Wohlsein, P., M. Peters, C. Schulze and W. Baumgartner. 2016. Thermal Injuries In Veterinary Forensic Pathology. *Veterinary Pathology*. 53(5) 1001-1017.

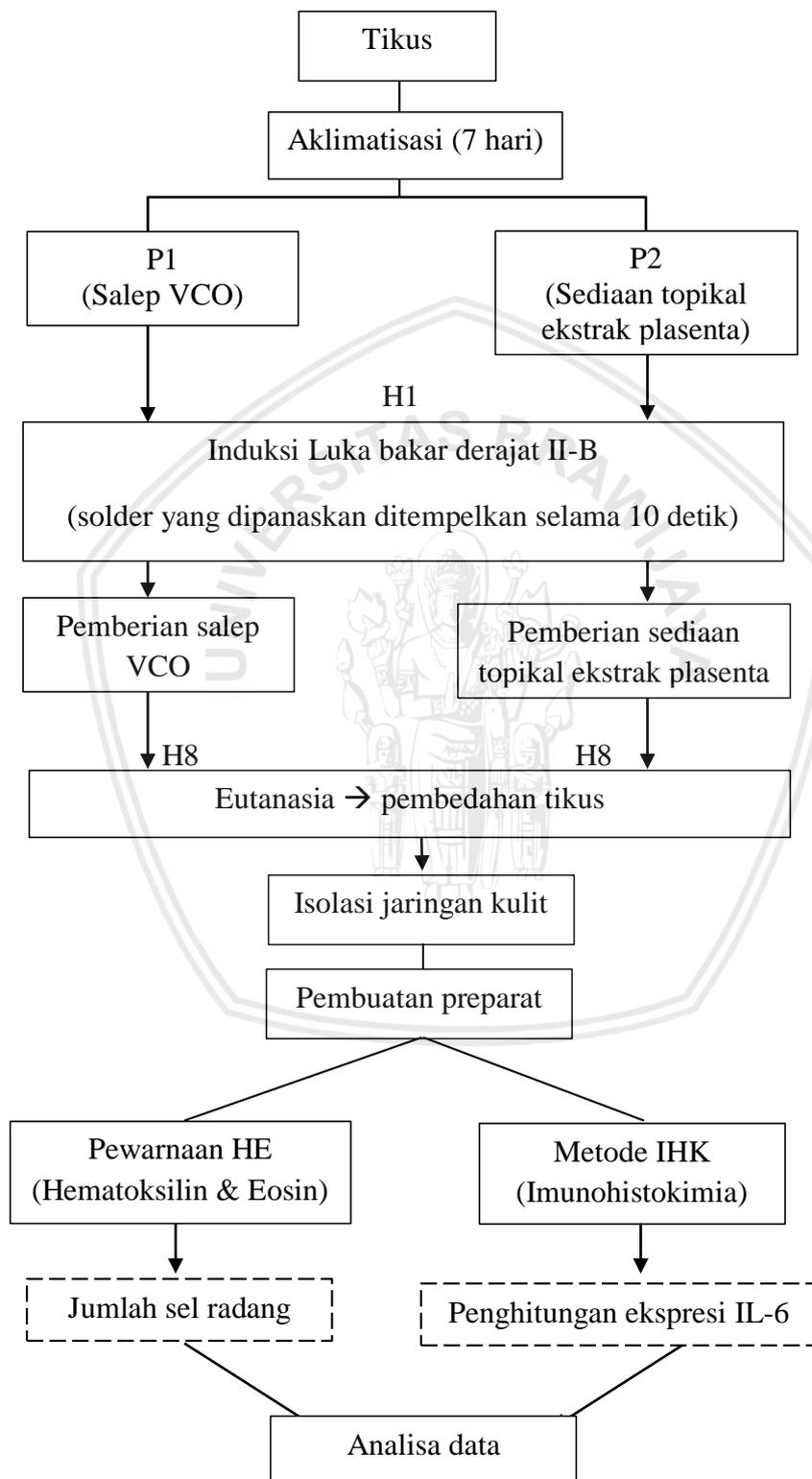
Young, A. and C. McNaught. 2011. The Physiology of Wound Healing. *Surgery (Oxford)*. 29. 475–479.

Young, B. 2006. *Wheater's Functional Histology: A Text and Colour Atlas*. Philadelphia USA: Elsevier.

Zayyan, A. B., M. Y. I. Nahzi dan I. Kustiyah. 2016. Pengaruh Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) Terhadap Jumlah Sel Limfosit Pada Inflamasi Pulpa. *Dentino (Jur. Ked. Gigi)* 1(2): 140-145.





**Lampiran 1. Kerangka Operasional Rancangan Penelitian**

Lampiran 2. Laik Etik Penelitian



**KOMISI ETIK PENELITIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
"ETHICAL CLEARENCE"**

No: 867-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** : PERBANDINGAN TERAPI SEDIAAN TOPICAL  
EKSTRAK PLASENTA DENGAN VCO (*VIRGIN  
COCONUT OIL*) TERHADAP LUKA BAKAR DERAJAT  
IIB PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)  
BERDASARKAN EKSPRESI TNF- $\alpha$  DAN KETEBALAN  
EPIDERMIS

**PENELITI** : RIZAL PANDU SYAHPUTRA

**UNIT/LEMBAGA/TEMPAT** : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

**DINYATAKAN** : LAIK ETIK

Malang, 17 Januari 2018  
Ketua Komisi Etik Penelitian  
Universitas Brawijaya



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

Lampiran 3. Standar Mutu VCO Sesuai SNI 7381:2008 (BSN, 2008)

Tabel Standar Mutu VCO

No	Jenis	Satuan	Persyaratan
1.	Keadaan: 1.1 Bau  1.2 Rasa  1.3 Warna		Khas kelapa segar, tidak tengik Normal, khas minyak kelapa Tidak berwarna hingga kuning pucat
2.	Air dan senyawa yang menguap	%	Maks 0,2
3.	Bilangan iod	g iod/100 g	4,1 – 11,0
4.	Asam lemak bebas (dihitung sebagai asam laurat)	%	Maks 0,2
5.	Bilangan peroksida	mg ek/kg	Maks 0,2
6.	Asam lemak :		
	6.1 Asam kaproat (C6 : 0)	%	ND – 0,7
	6.2 Asam kaprilat (C8 : 0)	%	4,6 – 10,0
	6.3 Asam kaprat (C10 : 0)	%	5,0 – 8,0
	6.4 Asam laurat (C12 : 0)	%	45,1 – 53,2
	6.5 Asam miristat (C14 : 0)	%	16,8 - 21
	6.6 Asam palmitat (C16 : 0)	%	7,5 – 10,2
	6.7 Asam stearat (C18)	%	2,0 – 4,0
	6.8 Asam oleat (C18 : 1)	%	5,0 – 10,0
	6.9 Asam linoleat (C18 : 2)	%	1,0 – 2,5
	6.10 Asam linolenat (C18:3)	%	ND – 0,2
7.	Cemaran mikroba		
	7.1 Angka lempeng total	Koloni/mL	Maks 10
8.	Cemaran Logam :		
	8.1 Timbal (Pb)	mg/kg	Maks 0,1
	8.2 Tembaga (Cu)	mg/kg	Maks 0,4
	8.3 Besi (Fe)	mg/kg	Maks 5,0
	8.4 Cadmium (Cd)	mg/kg	Maks 0,1
9.	Cemaran arsen (As)	mg/kg	Maks 0,1
<b>CATATAN</b> ND = <i>No Detection</i> (Tidak terdeteksi)			

#### Lampiran 4. Penghitungan Konsentrasi Salep VCO

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Silalahi (2015) menunjukkan bahwa VCO dengan konsentrasi 70% memiliki aktivitas penyembuhan yang paling baik terhadap luka apabila dibandingkan dengan VCO konsentrasi 0% dan 35%, sehingga dalam penelitian ini penulis menggunakan VCO dengan konsentrasi 70% pada sediaan salep. Maka didapat perhitungan sebagai berikut:

1. Jumlah total salep yang diperlukan dalam setiap kelompok perlakuan (dosis 0,1 gram):  
 $0,1 \text{ g} \times 2 \text{ (pagi dan sore)} \times 7 \text{ (lama terapi)} \times 9 \text{ (jumlah tikus pada setiap kelompok perlakuan)} = 12,6 \text{ g} \approx 13 \text{ g}$
2. Jumlah VCO yang diperlukan untuk konsentrasi 70%:  
$$\text{Jumlah VCO} = \frac{70 \times 13}{100} = 9,1 \text{ g}$$
3. Jumlah basis salep adeps lanae yang diperlukan adalah  $13 - 9,1 = 3,9 \text{ g}$   
Sehingga untuk membuat salep VCO sebanyak 13 gram dibutuhkan 3,9 gram adeps lanae dan 13 gram VCO 70%.

**Lampiran 5.** Informasi Sediaan Topikal Ekstrak Plasenta (Kalbemed, 2013)

<b>Informasi Terkait</b>	<b>Rincian</b>
Komposisi	Ekstrak plasenta 10%, neomisin sulfat 0,5%
Bentuk Sediaan	Gel
Farmakologi	Ekstrak plasenta memicu pembentukan jaringan baru dan untuk penyembuhan luka ( <i>wound healing</i> ). Kandungan neomisin sulfat untuk mencegah infeksi bakteri gram negatif pada area luka
Indikasi	Luka bakar, luka dengan infeksi, luka kronik dan jenis luka yang lain
Dosis	Dioleskan 4-6 kali sehari atau sesuai kebutuhan
Kontraindikasi	Hipersensitif terhadap ekstrak plasenta atau neomisin
Efek Samping	Reaksi hipersensitivitas
Kelas MIMS	Antibiotik topikal
Klasifikasi ATC	D06AX04 – neomisin; termasuk dalam kelas antibiotik topikal lain yang digunakan untuk penatalaksanaan penyakit kulit

**Lampiran 6. Perhitungan Dosis Anestesi**

## A. Volume Ketamin HCL 10%

Dosis ketamin HCL 10% per IM = 10 mg/kgBB

Berat badan tikus = 200 g = 0,2 kg

Konsentrasi ketamin HCL 10% = 100 mg/mL

$$\text{Volume} = \frac{\text{dosis obat} \times \text{berat badan}}{\text{konsentrasi}} = \frac{10 \times 0,2}{100} = 0,02 \text{ mL}$$

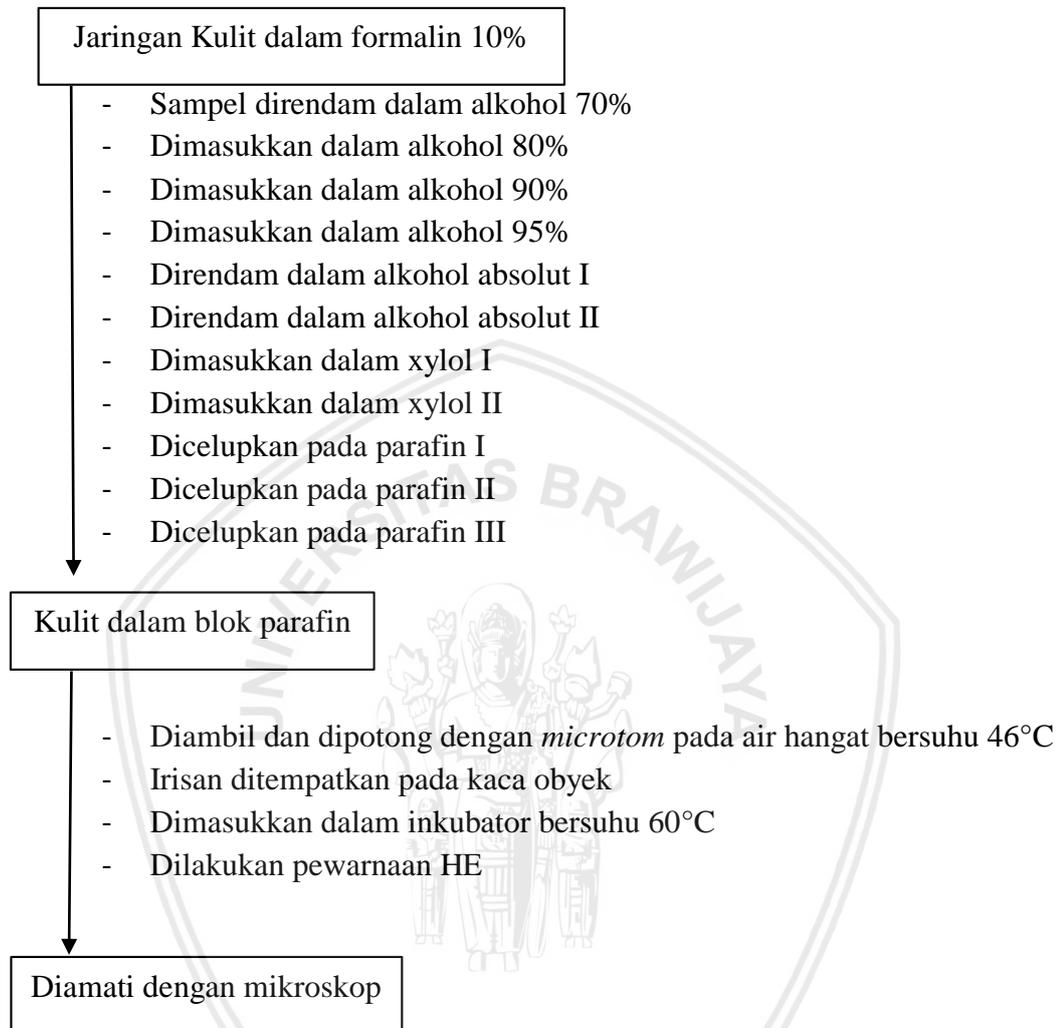
## B. Volume Xylazine 2%

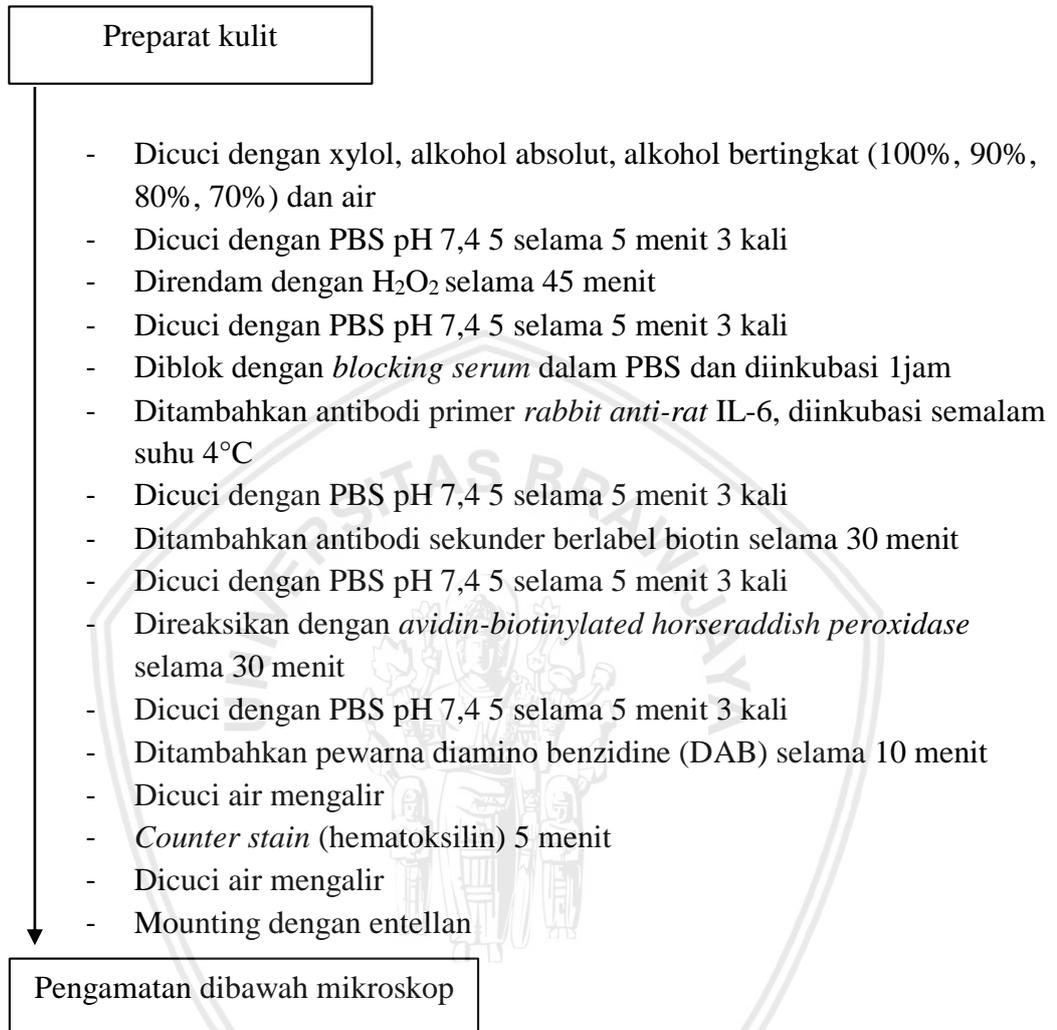
Dosis xylazine 2% per IM = 2 mg/kgBB

Berat badan tikus = 200 g = 0,2 kg

Konsentrasi xylazine 2% = 20 mg/mL

$$\text{Volume} = \frac{\text{dosis obat} \times \text{berat badan}}{\text{konsentrasi}} = \frac{2 \times 0,2}{20} = 0,02 \text{ mL}$$

**Lampiran 7. Pembuatan Preparat Histopatologi Jaringan**

**Lampiran 8. Metode Imunohistokimia Ekspresi IL-6**

## Lampiran 9. Analisa Ekspresi Interleukin-6

### 1. Deskriptif

#### *Descriptive Statistics*

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
P1	9	50,82	76,22	65,8044	7,78441
P2	9	53,70	78,64	69,7311	8,25028
Valid N (listwise)	9				

### 2. Uji Homogenitas

#### *Test Homogeneity of Variance*

Ekspresi IL-6

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,181	1	16	,677

Varian data homogen karena nilai sig. > 0,05

### 3. Uji Normalitas

#### *Test of Normality*

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
P1	,124	9	,200*	,966	9	,863
P2	,180	9	,200*	,910	9	,313

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

a. Lilliefors Significance Correction

Pada uji normalitas sig. > 0,05 maka data terdistribusi normal.

#### 4. Uji T Independen

<i>Independent Samples Test</i>										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
<b>IL-6</b>	Equal variances assumed	,181	,677	-1,039	16	,314	-3,92667	3,78101	-11,94205	4,08871
	Equal variances not assumed			-1,039	15,946	,315	-3,92667	3,78101	-11,94424	4,09091

Kedua kelompok tidak memiliki perbedaan yang signifikan, karena nilai sig. > 0,05.

## Lampiran 10. Analisa Jumlah Sel Neutrofil

### 1. Deskriptif

#### *Descriptive Statistics*

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
P1	9	2,60	4,00	3,2222	,40552
P2	9	2,80	4,60	3,6889	,53020
Valid N (listwise)	9				

### 2. Uji Homogenitas

#### *Test Homogeneity of Variance*

Jumlah Sel Neutrofil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,451	1	16	,511

Varian data homogen karena nilai sig. > 0,05

### 3. Uji Normalitas

#### *Test of Normality*

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
P1	,189	9	,200*	,948	9	,672
P2	,195	9	,200*	,977	9	,946

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

b. Lilliefors Significance Correction

Pada uji normalitas nilai sig. > 0,05 maka data terdistribusi normal.

#### 4. Uji T Independen

<i>Independent Samples Test</i>										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Jumlah sel Neutrofil	Equal variances assumed	,451	,511	-2,097	16	,052	-,46667	,22250	-,93835	,00501
	Equal variances not assumed			-2,097	14,973	,053	-,46667	,22250	-,94099	,00765

Kedua kelompok tidak memiliki perbedaan yang signifikan, dikarenakan nilai sig. > 0,05.