

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

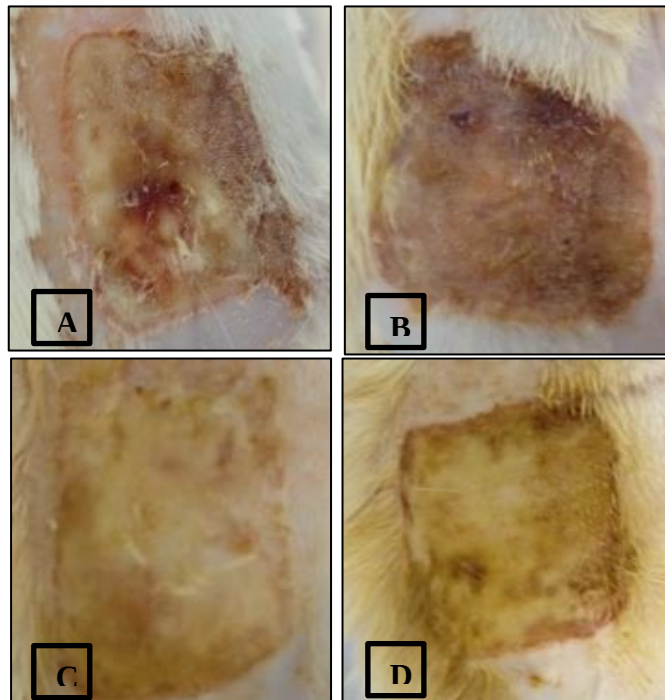
5.1 Pengaruh Terapi Salep Daun Singkong (*Manihot esculenta*) terhadap Luka Bakar pada Tikus Putih berdasarkan Gambaran Makroskopis

Gambaran makroskopis luka bakar (**Gambar 5.1**) pada penelitian ini, sebelum diberikan terapi menunjukkan kondisi kulit yang mengalami kematian jaringan, terlihat dari warna kulit yang putih dan sedikit gosong, helai-helai rambut sisa pencukuran yang terdapat di area luka tampak terbakar dan rusak. Berdasarkan karakteristik luka bakar yang terbentuk, yaitu adanya lepuhan bulat menonjol berisi cairan serosa menunjukkan bahwa penempelan solder panas selama lima detik dapat menyebabkan luka bakar derajat II.



Gambar 5.1. Gambaran makroskopis luka bakar sebelum terapi, kulit mengalami kematian jaringan dan kerusakan helai-helai rambut sisa pencukuran yang terdapat pada area luka (Dokumentasi pribadi).

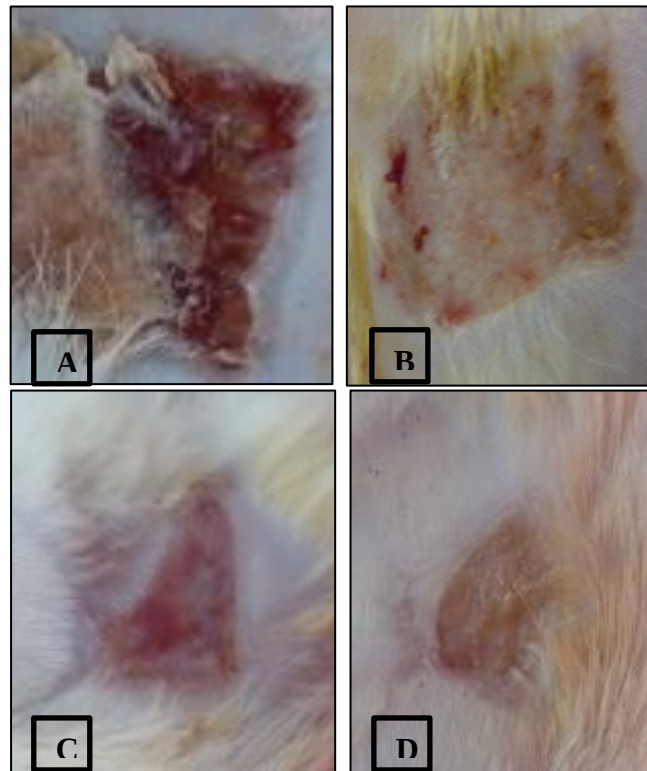
Pengamatan makroskopis luka bakar setelah terapi hingga hari ke-7 menunjukkan proses penyembuhan yang berbeda-beda pada setiap kelompok perlakuan. Kelompok kontrol positif (**Gambar 5.2A**) menunjukkan pembentukan jaringan kulit mati yang tebal dan menonjol dimana di bawahnya terisi oleh udara.



Gambar 5.2. Gambaran makroskopis kulit luka bakar terapi salep daun singkong hari ke-7 (Dokumentasi pribadi).

Keterangan: **A.** Kelompok kontrol positif, jaringan kulit mati tebal dan menonjol, pertumbuhan rambut baru tampak di tepi luka, tidak terjadi pengecilan ukuran luka
B. Kelompok terapi 4%, jaringan kulit mati tebal, pertumbuhan rambut baru tampak di tepi dan atas luka, tidak terjadi pengecilan ukuran luka
C. Kelompok terapi 8%, jaringan kulit mati tipis (hampir tidak terlihat), pertumbuhan rambut baru tampak di tepi luka, tidak terjadi pengecilan ukuran luka
D. Kelompok terapi 12%, jaringan kulit mati tipis, pertumbuhan rambut baru tampak di tepi dan atas luka, tidak terjadi pengecilan ukuran luka

Pertumbuhan rambut baru hanya tampak di tepi luka dan tidak terlihat adanya pengecilan ukuran luka. Kelompok terapi 4% (**Gambar 5.2B**) menunjukkan pembentukan jaringan kulit mati yang tebal. Pertumbuhan rambut baru tampak di tepi dan di atas luka namun belum terlihat adanya pengecilan luka. Kelompok terapi 8% (**Gambar 5.2C**) menunjukkan pembentukan jaringan kulit mati yang tipis (hampir tidak terlihat pembentukan jaringan kulit mati karena sangat tipis



Gambar 5.3. Gambaran makroskopis kulit luka bakar terapi salep daun singkong hari ke-15 (Dokumentasi pribadi).

Keterangan: **A.** Kelompok kontrol positif, jaringan kulit mati tebal dan membentuk eskar, pertumbuhan rambut baru tampak di tepi luka, tidak terjadi pengecilan ukuran luka
B. Kelompok terapi 4%, jaringan kulit mati terlepas, pertumbuhan rambut baru tampak di tepi luka, tidak terjadi pengecilan ukuran luka
C. Kelompok terapi 8%, jaringan kulit mati terlepas, pertumbuhan rambut baru tampak di tepi luka, terjadi pengecilan ukuran luka
D. Kelompok terapi 12%, jaringan kulit mati terlepas, pertumbuhan rambut baru tampak di tepi luka, terjadi pengecilan ukuran luka

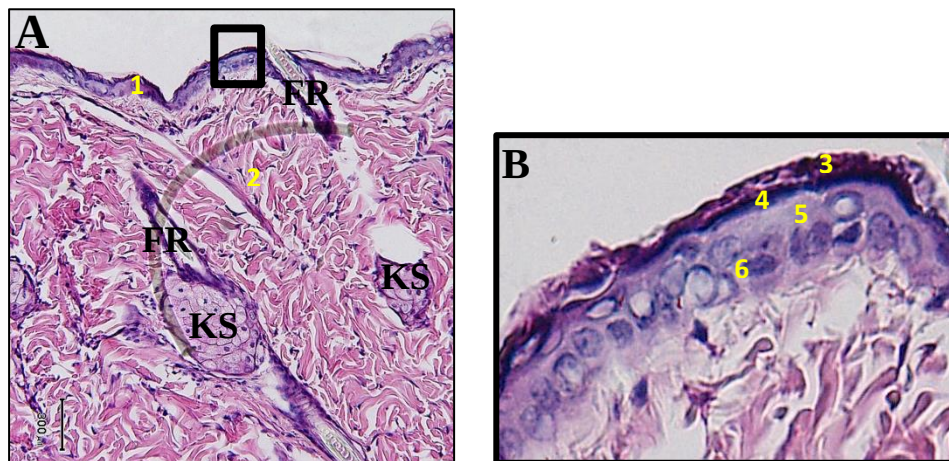
dan sebagian telah terkelupas), pertumbuhan rambut baru tidak terlihat di tepi maupun di atas luka, dan belum terjadi pengecilan ukuran luka. Kelompok terapi 12% (**Gambar 5.2D**) menunjukkan pembentukan jaringan kulit mati yang tipis (sama seperti kelompok terapi 8%), pertumbuhan rambut baru tampak di tepi luka dan sedikit di atas luka, tidak terlihat adanya pengecilan ukuran luka.

Pengamatan makroskopis luka bakar setelah diterapi hingga hari ke-15 menunjukkan proses penyembuhan yang lebih baik. Kelompok kontrol positif (**Gambar 5.3A**) menunjukkan penumpukan jaringan kulit mati (eskar), pertumbuhan rambut baru hanya tampak di tepi luka dan tidak terjadi pengecilan ukuran luka mulai dari awal penelitian. Kelompok terapi 4% (**Gambar 5.3B**) menunjukkan kondisi kulit sehat yang baru karena jaringan mati telah terlepas. Pertumbuhan rambut baru hanya tampak di tepi luka karena rambut baru yang sempat tumbuh di atas luka ikut tercabut saat terlepasnya jaringan kulit mati, namun ukuran luka masih belum mengecil. Kelompok terapi 8% (**Gambar 5.3C**) menunjukkan kondisi kulit yang sama seperti kelompok terapi 4% dimana jaringan mati telah terlepas dan menunjukkan kulit sehat baru. Pertumbuhan rambut baru tampak di tepi luka dan terjadi pengecilan ukuran luka dari ukuran luka hari pertama penelitian. Kelompok terapi 12% (**Gambar 5.3D**) menunjukkan gambaran makroskopis yang sama seperti kelompok terapi 8%, yaitu jaringan mati yang telah terlepas menunjukkan kulit sehat baru, pertumbuhan rambut tampak di tepi luka dan terjadi pengecilan ukuran luka.

5.2 Pengaruh Terapi Salep Daun Singkong (*Manihot esculenta*) terhadap Luka Bakar pada Tikus Putih berdasarkan Gambaran Histopatologi Kulit

Gambaran histologi kulit kelompok kontrol negatif hari ke-15 (**Gambar 5.4**) menunjukkan kondisi kulit tikus normal. Kulit ini disusun oleh lapisan epidermis yang terdiri atas beberapa stratum, yaitu satu lapis stratum korneum, satu lapis stratum granulosum, satu lapis stratum spinosum, dan satu lapis stratum

germinativum atau basalis. Lapisan dermis tersusun oleh stratum papilar dan stratum retikular dengan keberadaan folikel rambut dan kelenjar sebacea.



Gambar 5.4. Gambaran Histologis Pewarnaan HE Kelompok Kontrol Negatif Perbesaran 100x (A) dan 400x (B) hari ke-15 (Dokumentasi Pribadi)

Keterangan: **A.** Kulit disusun oleh lapisan epidermis (1) dan lapisan dermis (2) dilengkapi dengan folikel rambut (FR) dan kelenjar sebacea (KS). **B.** Lapisan epidermis tersusun atas satu lapis stratum korneum (3), satu lapis stratum granulosum (4), satu lapis stratum spinosum (5), dan satu lapis stratum germinativum (6), keratinosit berdiferensiasi dan bermigrasi dengan baik.

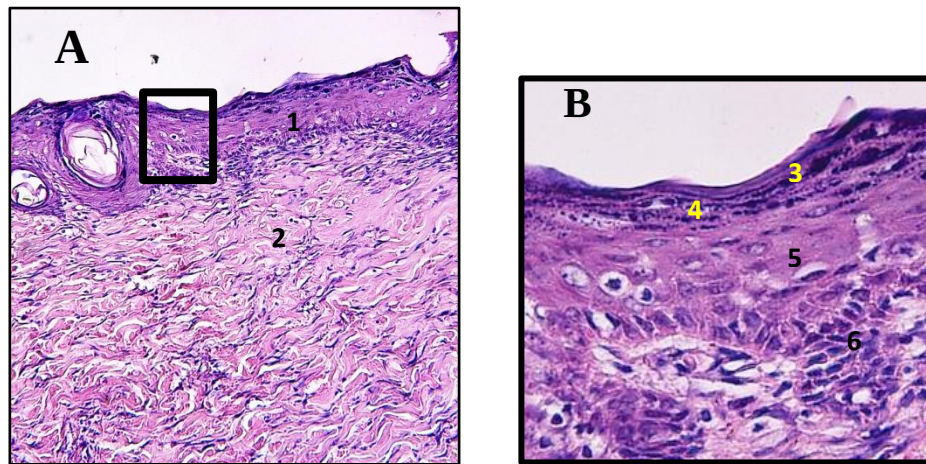
Kulit normal terdiri atas tiga lapisan yaitu epidermis, dermis dan hipodermis. Lapisan epidermis tersusun atas satu lapis stratum korneum yang disusun oleh epitel squamous anukleat dan berkreatin, satu lapis stratum granulosum yang disusun oleh basofilik kreatohyalin granula, satu lapis stratum spinosum yang disusun oleh epitel poligonal dan terikat oleh desmosom, dan satu lapis stratum germinativum atau basalis yang disusun oleh epitel kuboid atau kolumnar di sepanjang membran basalis. Lapisan dermis tersusun atas stratum papilar dan stratum retikular, terdapat folikel rambut, kelenjar sebacea dan kelenjar keringat.

Lapisan terakhir yaitu hipodermis yang banyak mengandung jaringan lemak (Bacha *and* Bacha, 2012; Eurell, 2004).

Semua epitel pada kulit sehat akan beregenerasi dan memperbaiki diri secara terus menerus untuk mempertahankan fungsi kulit sebagai pelindung tubuh terluar. Perbaruan epitel ini diatur oleh stem sel epidermal yang terdapat pada folikel rambut, interfolikel epidermis dan kelenjar sebacea bagian basal (Bacha *and* Bacha, 2012). Keratinosit yang terdapat di lapisan basal oleh stem sel epidermal akan berproliferasi dan berkembang dari fase diferensiasi pada saat bermigrasi menuju stratum granulosum dan berakhir menjadi sel squamous anukleat mati pada stratum korneum. Keratinosit dapat bermigrasi menuju lapisan kulit terluar setelah melepaskan diri dari ikatan sel-sel dan sel-substratum (Pastar, *et al.*, 2014).

Gambaran histopatologi kulit kelompok kontrol positif hari ke-15 (**Gambar 5.5A**) menunjukkan luka bakar derajat dua yang ditandai dengan kerusakan lapisan epidermis hingga dermis (Edlich, 2017). Kerusakan pada lapisan dermis dilihat dari ketiadaan folikel rambut atau kelenjar sebacea. Lapisan epidermis (**Gambar 5.5B**) menunjukkan re-epitelisasi (pertumbuhan epitel) yang mengalami penebalan pada stratum basalis, stratum spinosum dan stratum granulosum. Penebalan ini terlihat dari jumlah lapisan penyusun substratum yang lebih dari satu lapis.

Menurut Pastar, *et al.*, (2014), diferensiasi keratinosit ditandai dengan dua tipe ikatan sel, yaitu *desmosome* dan *adherens junction*. *Adherens junction* ditandai dengan keberadaan *E-cadherin*, dan α, β, γ -catenin. β -catenin salah



Gambar 5.5. Gambaran Histopatologis Pewarnaan HE Kelompok Kontrol Positif Perbesaran 100x (A) dan 400x (B) hari ke-15 (Dokumentasi Pribadi).

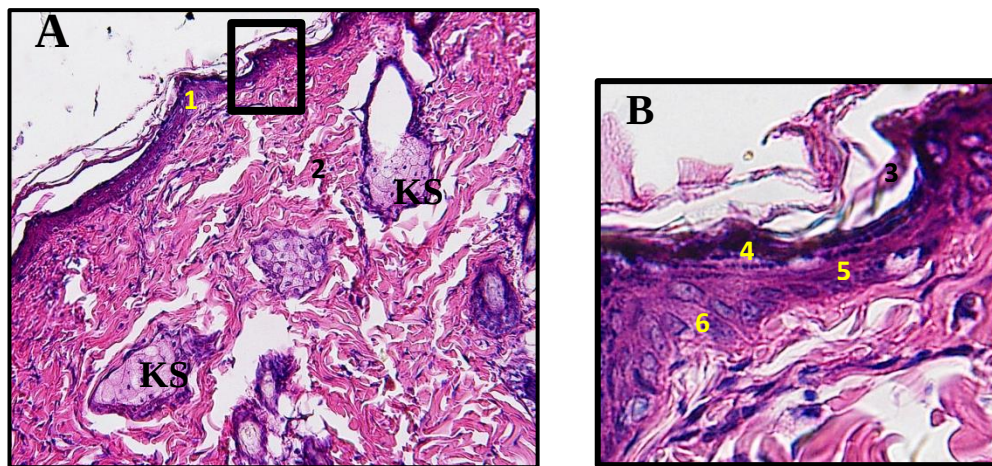
Keterangan: **A.** Kondisi kulit luka bakar menunjukkan derajat II yang ditandai dengan kerusakan lapisan epidermis (1) hingga lapisan dermis (2), tidak terdapat folikel rambut atau kelenjar sebacea.

B. Lapisan epidermis menunjukkan penebalan pada stratum korneum (3), stratum granulosum (4), stratum spinosum (5) dan stratum germinativum (6), penebalan disebabkan hiperproliferasi keratinosit dan migrasi yang sedikit terhambat membuat keratinosit menumpuk di suprabasalis, terlihat dari jumlah epitel penyusun stratum germinativum yang banyak dan tersusun lebih rapat.

satunya berperan sebagai *c-myc activator*. Keberadaan *c-myc* yang diaktivasi oleh *β-catenin* menyebabkan migrasi keratinosit dari basal lamina menuju stratum granulosum terhambat, sehingga pada luka akan ditemukan penebalan lapisan epidermis. Keratinosit tetap melakukan proliferasi akibat stimulus yang dikeluarkan oleh luka, tetapi tidak dapat bermigrasi dan berdiferensiasi menuju lapisan granulosum dan menumpuk di lapisan suprabasalis.

Gambaran histopatologi kulit kelompok terapi 4% hari ke-15 (**Gambar 5.6A**) menunjukkan keberadaan kelenjar sebacea baru di lapisan dermis setelah diterapi selama 14 hari. Lapisan epidermis (**Gambar 5.6B**) menunjukkan proliferasi dan migrasi keratinosit tidak menumpuk di suprabasalis dilihat dari jumlah penyusun

lapisan epidermis, yaitu stratum germinativum atau basal tersusun atas selapis epitel kuboid yang tidak terlalu rapat, satu hingga dua lapis stratum spinosum, satu lapis stratum granulosum yang berwarna basopilik, dan beberapa lapis stratum korneum yang sebagian sudah terlepas dari lapisan epidermis.

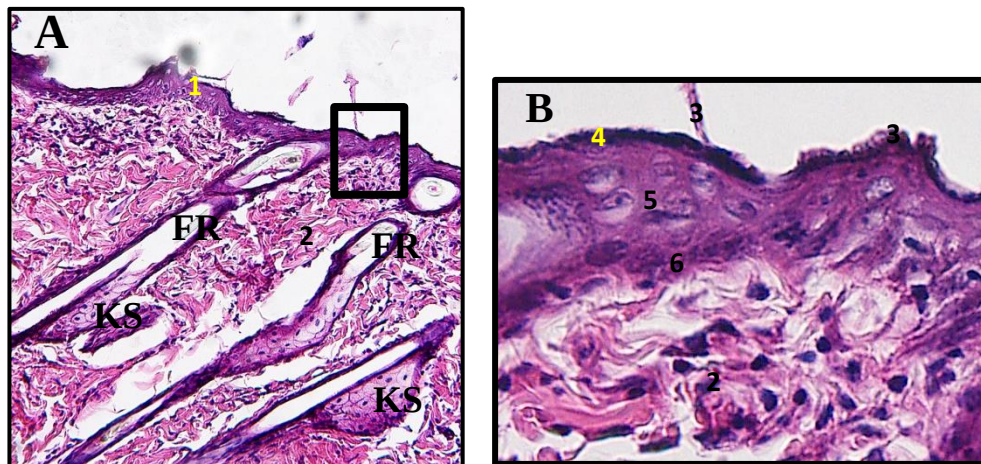


Gambar 5.6. Gambaran Histopatologis Pewarnaan HE Kelompok Tikus Model Luka Bakar Kelompok Terapi 4% Perbesaran 100x (A) dan 400x (B) hari ke-15 (Dokumentasi Pribadi).

Keterangan: A. Keberadaan kelenjar sebacea (KS) baru di lapisan dermis (2)
 B. Lapisan epidermis menunjukkan stratum korneum (3) yang terlepas dari lapisan epidermis (4), satu hingga dua lapis stratum spinosum (5) dan satu lapis stratum germinativum/basalis (6) dengan jumlah epitel penyusun yang tidak terlalu rapat menunjukkan bahwa proliferasi dan migrasi keratinosit tidak menumpuk di suprabasalis.

Kelompok terapi 4% menunjukkan re-epitelisasi yang lebih cepat jika dibandingkan kelompok kontrol positif, karena tidak terjadi penghambatan migrasi dari keratinosit menuju stratum granulosum seperti pada kelompok kontrol positif. Menurut Pastar, *et al.* (2014), kapasitas regenerasi kulit bergantung pada populasi lokal stem sel epidermal yang salah satunya berada pada kelenjar sebacea bagian basal, sehingga keberadaan komponen kulit normal

di lapisan dermis memungkinkan proses kesembuhan luka bakar terjadi lebih cepat.



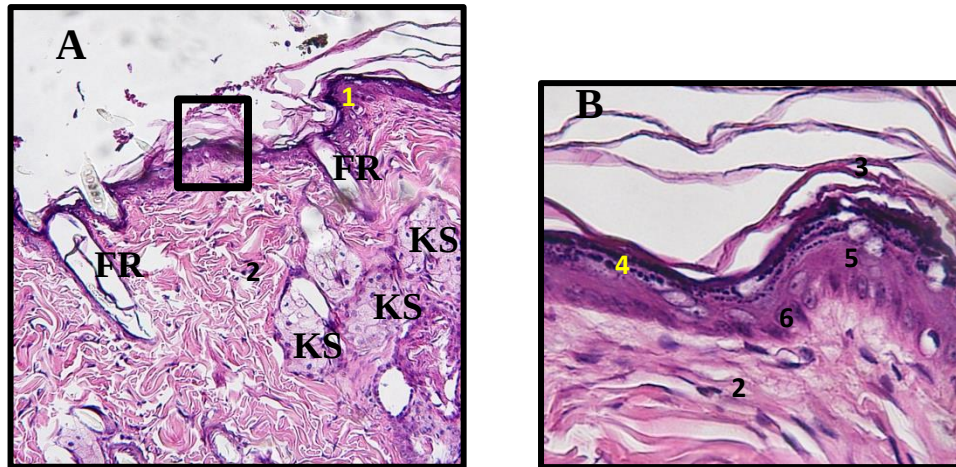
Gambar 5.7. Gambaran Histopatologi Pewarnaan HE Kelompok Tikus Model Luka Bakar Kelompok Terapi 8% Perbesaran 100x (A) dan 400x (B) hari ke-15 (Dokumentasi Pribadi).

Keterangan: **A.** Keberadaan kelenjar sebacea (KS) dan folikel rambut (FR) baru di lapisan dermis tumbuh lebih banyak (2)

B. Lapisan epidermis menunjukkan stratum korneum (3) yang sangat tipis dan beberapa telah terlepas dari lapisan epidermis, satu lapis stratum granulosum (4), beberapa lapis stratum spinosum (5) dan satu lapis stratum germinativum (6), susunan epitel kuboid pada stratum germinativum tidak terlalu rapat yang menunjukkan bahwa proliferasi dan migrasi keratinosit tidak terhambat.

Gambaran histopatologi kulit kelompok terapi 8% pada hari ke-15 (**Gambar 5.7A**) menunjukkan keberadaan kelenjar sebacea dan folikel rambut baru yang lebih banyak di lapisan dermis. Lapisan epidermis (**Gambar 5.7B**) menunjukkan pertumbuhan re-epitelisasi yang hampir sama dengan kelompok terapi 4% dilihat dari jumlah lapisan penyusun epidermis, yaitu stratum germinativum atau basal tersusun atas selapis epitel kuboid yang tidak terlalu rapat, beberapa lapis stratum

spinosum, satu lapis stratum granulosum yang berwarna basopilik, dan satu lapis stratum korneum tipis yang sebagian besar sudah terlepas dari lapisan epidermis.



Gambar 5.8. Gambaran Histopatologi Pewarnaan HE Kulit Tikus Model Luka Bakar Kelompok Terapi 12% Perbesaran 100x (A) dan 400x (B) hari ke-15 (Dokumentasi Pribadi).

Keterangan: A. Keberadaan folikel rambut (FR) dan kelenjar sebacea (KS) baru tumbuh lebih banyak lagi di lapisan dermis (2)

B. Lapisan epidermis menunjukkan beberapa lapis stratum korneum (3) yang sebagian telah terlepas dari lapisan epidermis, satu lapis stratum granulosum (4), beberapa lapis stratum spinosum (5) dan satu lapis stratum germinativum (6) yang tidak terlalu rapat.

Jumlah sel penyusun stratum germinativum tidak terlalu rapat dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yang menunjukkan bahwa proliferasi keratinosit tidak tertumpuk di suprabasalis dan bermigrasi dengan baik menuju stratum granulosum.

Gambaran histopatologi kulit kelompok terapi 12% hari ke-15 (**Gambar 5.8A**) menunjukkan keberadaan beberapa kelenjar sebacea dan beberapa folikel rambut baru di lapisan dermis yang lebih banyak lagi. Lapisan epidermis

(**Gambar 5.8B**) menunjukkan pertumbuhan re-epitelisasi yang hampir sama dengan kelompok kontrol negatif dilihat dari jumlah lapisan penyusun epidermis, yaitu stratum germinativum/basal tersusun atas selapis epitel kuboid, satu lapis stratum spinosum, satu lapis stratum granulosum yang berwarna basofilik, dan beberapa lapis stratum korneum yang sebagian besar sudah terlepas dari lapisan epidermis. Jumlah sel penyusun stratum germinativum tidak terlalu rapat dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yang menunjukkan bahwa proliferasi keratinosit tidak tertumpuk di suprabasalis dan bermigrasi dengan baik menuju stratum granulosum.

Kandungan nutrisi yang terdapat pada daun singkong diduga dapat mendukung proses penyembuhan luka bakar yang lebih cepat dilihat dari re-epitelisasi dan pertumbuhan komponen kulit dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Flavonoid sebagai agen antiinflamasi mampu membatasi pelepasan mediator inflamasi dengan menghambat metabolisme siklooksigenase dan lipoksigenase, sehingga terjadi pembatasan jumlah sel inflamasi yang bermigrasi ke jaringan perlukaan. Flavonoid juga mempercepat proses penyembuhan luka yang didukung dengan mekanisme antioksidan dalam menghambat aktivitas radikal bebas. Fase inflamasi yang berlangsung lebih singkat menghasilkan proses re-epitelisasi tercapai lebih dini (Dewi, dkk., 2013).

Saponin berperan sebagai antibakteri karena dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan cara merusak dan mengganggu fungsi membran sel mikroorganisme tersebut. Saponin yang berinteraksi dengan sel bakteri akan meningkatkan permeabilitas sel bakteri, sehingga terjadi hemolisis dari sel bakteri

tersebut. Keberadaan saponin dalam ekstrak daun singkong diduga dapat mendukung proses penyembuhan luka lebih cepat dengan meminimalisir kontaminasi bakteri sehingga epitel dapat bermitosis dan berproliferasi dengan baik (Auronita, 2016). Saponin juga berperan dalam mekanisme penyembuhan luka dengan cara menstimulasi produksi kolagen tipe I yang berperan penting dalam penutupan luka dan peningkatan re-epitelisasi jaringan (Miladiyah, 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Kim (2011) menunjukkan bahwa kelompok yang diberikan saponin memiliki kecepatan migrasi sel-sel keratinosit lebih tinggi yang juga mempengaruhi kecepatan re-epitelisasi epidermis dibandingkan kelompok kontrol positif. Kandungan lain pada ekstrak daun singkong seperti vitamin C juga diduga dapat mendukung regenerasi sel-sel epitel dan jaringan ikat (Fasugi, 2005). Menurut Rath (2008), vitamin C penting untuk pembentukan jaringan ikat baru pada saat penyembuhan luka. Komponen yang terpenting dalam penyembuhan luka adalah kolagen yang tersusun atas asam amino lisin, prolin, dan glisin. Kolagen membentuk struktur jaringan ikat yang kemudian menjadi kerangka pembentukan jaringan baru. Enzim-enzim yang berperan dalam pembentukan kolagen tidak dapat berfungsi tanpa ko-faktornya, yaitu vitamin C. Kondisi seperti luka bakar akan membuat kadar vitamin C menurun secara drastis, sehingga dibutuhkan vitamin C tambahan agar kadar vitamin C kembali normal. Pembentukan jaringan ikat baru akan terhalang dan luka akan sembuh dengan buruk, tanpa penambahan vitamin C.

5.3 Pengaruh Terapi Salep Daun Singkong (*Manihot esculenta*) terhadap Luka Bakar pada Tikus Putih berdasarkan Kadar Enzim SOD

Pengukuran aktivitas enzim SOD serum dianalisa menggunakan uji *One-Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Tukey* pada tingkat signifikansi $p < 0,05$. Uji statistik menggunakan *One-Way ANOVA* membutuhkan data yang bersifat normal dan homogen, sehingga perlu dilakukan uji normalitas dan homogenitas sebelum data diolah menggunakan *One-Way ANOVA*. Hasil uji normalitas dan uji homogenitas menunjukkan nilai $p > 0,05$, artinya data terdistribusi normal dan homogen (lihat **Lampiran 6**). Hasil analisa statistik menunjukkan nilai $p < 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan bermakna antara aktivitas enzim SOD serum pada masing-masing kelompok perlakuan. Hasil uji lanjutan menggunakan uji *Tukey* dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 5\%$) bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan yang terdapat pada **Tabel 5.1**.

Tabel 5.1. Rata-Rata Kadar SOD Serum Tikus Putih

Perlakuan	Rata-rata Kadar SOD (unit/200 μ L)
Kontrol negatif (A)	36.638 $\pm$ 9.25 ^b
Kontrol positif (B)	18.691 $\pm$ 4.43 ^a
Konsentrasi terapi 4% (C)	31.281 $\pm$ 3.51 ^{ab}
Konsentrasi terapi 8% (D)	30.946 $\pm$ 6.92 ^{ab}
Konsentrasi terapi 12% (E)	34.964 $\pm$ 4.91 ^b
Keterangan: notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan ($p < 0,05$)	

Rata-rata kadar SOD serum yang ditunjukkan oleh kelompok kontrol negatif menunjukkan nilai rata-rata kadar SOD serum yang paling tinggi, karena pada kelompok ini tidak diberikan perlakuan apapun diluar aktivitas alaminya,

sehingga dapat ditentukan sebagai standar nilai rata-rata kadar SOD serum tikus putih dalam kondisi normal. Tingginya kadar enzim SOD pada kelompok kontrol negatif menunjukkan bahwa terdapat keseimbangan antara jumlah antioksidan dan prooksidan di dalam tubuh, sehingga enzim SOD yang berperan sebagai salah satu antioksidan intraseluler dapat mendismutase superoksida radikal dan mencegah kondisi stres oksidatif.

Menurut Fukai *and* Ushio-Fukai (2011), secara normal organisme aerobik memiliki sistem pertahanan antioksidan yang berhubungan dengan spesies oksigen reaktif (ROS) yang dihasilkan sebagai konsekuensi respirasi aerob dan oksidasi substrat. ROS intraseluler atau ekstraseluler (misalnya superoksida dan H_2O_2) dalam level rendah sangat diperlukan dalam banyak proses biokimia, termasuk sinyal intraseluler, pertahanan terhadap mikroorganisme dan fungsi sel. Oksigen dalam proses metabolisme sel normal mengalami serangkaian reduksi univalen menghasilkan O_2 , hidrogen peroksida (H_2O_2) dan H_2O . Sumber enzimatik ROS yang potensial meliputi komponen rantai transport elektron mitokondria, *xanthine oxidase*, sitokrom P450 monooksigenase, lipoksigenase, *nitric oxide synthase* (NOS) dan *NADPH oxidase*. Anion superoksida dipecah oleh superoksida dismutase (SOD) menjadi H_2O_2 yang dikatalisis menjadi H_2O dengan katalase *peroxiredoxin* (Prx) atau *glutathione peroxide* (GPx).

Kelompok kontrol positif menunjukkan rata-rata kadar SOD serum paling rendah, karena pada kelompok ini dilakukan perlakuan namun tidak diberikan terapi selama 14 hari. Nilai rendah yang muncul pada analisa *One-Way ANOVA* menunjukkan fase inflamasi yang lebih lama dibandingkan kelompok terapi

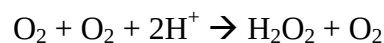
memicu kondisi stress oksidatif, sehingga kadar SOD serum menjadi lebih rendah dibandingkan kadar SOD serum kelompok terapi maupun kelompok kontrol negatif.

Kelompok terapi 4%, 8% dan 12% menunjukkan rata-rata kadar SOD serum yang lebih tinggi dari kelompok kontrol positif dan hampir mendekati nilai rata-rata kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa terapi salep daun singkong berpengaruh terhadap proses penyembuhan luka bakar, yaitu mempercepat proses penyembuhan luka bakar yang dibandingkan dengan kelompok kontrol positif .

Uji lanjutan *Tukey* dengan tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa kelompok terapi 4% dan 8% tidak berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap kelompok kontrol positif maupun kontrol negatif. Nilai rata-rata SOD serum yang menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$) terhadap kelompok kontrol positif terlihat pada kelompok terapi 12% yang berbeda nyata dengan nilai kelompok kontrol positif serta tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terapi salep daun singkong dengan konsentrasi 12% merupakan konsentrasi salep yang paling bagus meningkatkan kadar enzim SOD serum pada hewan model luka bakar.

Kondisi stres oksidatif seperti luka bakar dapat meningkatkan produksi radikal bebas di dalam tubuh dan menurunkan enzim-enzim antioksidan intrasel. Enzim superoksida dismutase, glutathione peroksidase dan katalase termasuk enzim antioksidan intrasel yang diproduksi di dalam tubuh untuk meredam radikal bebas, sehingga dapat mencegah kerusakan sel (Halliwell, 2006). Enzim

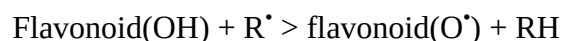
antioksidan sangat penting dalam pertahanan organisme melawan stress oksidatif. Enzim yang paling penting adalah superoksida dismutase yang mengubah superoksida menjadi hidrogen peroksida dan oksigen.



SOD berperan dalam melindungi organisme melawan efek merusak dari radikal bebas superoksida. Sejumlah metode langsung dan tidak langsung telah dipublikasikan untuk pengujian SOD. Metode langsung spektrofotometri merupakan metode yang sensitif dan spesifik untuk mengetahui kadar enzim SOD (Singh, *et al.*, 2015).

Peningkatan kadar enzim SOD serum pada ketiga kelompok terapi disebabkan adanya kandungan antioksidan di dalam daun singkong. Hal ini dibuktikan dengan uji skrining fitokimia bahwa daun singkong memiliki kandungan bioaktif berupa flavonoid. Menurut Khlebnikov *et al.* (2007), antioksidan didefinisikan sebagai substansi yang secara langsung menyingkirkan ROS atau secara tidak langsung bekerja untuk meningkatkan regulasi pertahanan antioksidan atau menghambat produksi ROS.

Flavonoid menstabilkan ROS dengan cara bereaksi dengan komponen reaktif dari radikal tersebut menghasilkan radikal yang lebih stabil. Tingginya reaktifitas dari grup hidroksil flavonoid radikal diinaktivasi dengan rumus:



$R^{\bullet}$ merupakan radikal bebas dan $O^{\bullet}$ merupakan oksigen radikal bebas. Flavonoid terpilih dapat merombak superoksida secara langsung, sedangkan flavonoid yang lain dapat merombak derivat radikal-oksigen reaktif tinggi yang disebut dengan

peroksinitrit. Rutin merupakan jenis flavonoid yang terdapat di dalam daun singkong dan merupakan perombak radikal yang kuat. Kemampuan perombakan rutin ini mungkin karena aktivitas inhibitorynya dalam enzim *xanthine oxidase*. Sejumlah derivat mediator endothelium dan faktor-faktor komplemen yang terdapat pada fase inflamasi dapat menyebabkan adhesi leukosit ke dinding endothelial, sehingga terjadi *immobilizing* dan stimulasi degranulasi netrofil. Hasilnya, oksidan dan mediator inflamasi dilepaskan dan menyebabkan kerusakan pada jaringan. Flavonoid tertentu dapat menurunkan aktivasi komplemen tersebut, sehingga adhesi sel-sel inflamasi ke endothelium menurun dan secara umum menghilangkan respon inflamasi. Kemampuan lain dari flavonoid yaitu mereduksi pelepasan peroksidase. Pereduksian ini menghambat produksi ROS oleh netrofil dengan bantuan aktivasi α_1 -antitrypsin. Flavonoid sebagai agen antiinflamasi menghambat metabolisme asam arakidonat. Siklooksigenase dan lipoksigenase dalam metabolisme asam arakidonat berperan penting sebagai mediator inflamasi. Keduanya terlibat dalam pelepasan asam arakidonat yang merupakan titik awal respon inflamasi secara umum. Netrofil yang mengandung lipoksigenase membentuk komponen kemotaksis dari asam arakidonat dan memicu pelepasan sitokin. Komponen fenolik tertentu terbukti dapat menghambat jalur siklooksigenase dan 5-lipoksigenase yang dapat mengurangi pelepasan asam arakidonat (Nijveldt, *et al.* 2001).

Kondisi-kondisi histopatologis dari masing-masing kelompok, jika dibandingkan dengan hasil analisa kadar enzim SOD menunjukkan kecocokan, dimana hasil terbaik ditunjukkan oleh kelompok tikus yang diterapi dengan salep

daun singkong 12%, namun kedua kelompok terapi lainnya yaitu 4% dan 8% juga memberikan efek terapi terhadap luka bakar.

Menurut Mehrabani, *et al.* (2015), stres oksidatif yang disebabkan oleh aktivitas radikal bebas dapat menghambat proses penyembuhan luka dan menghasilkan hasil yang buruk ketika luka telah sembuh. Pemberian antioksidan pada terapi luka bakar akan memperkuat mekanisme pertahanan antioksidan seluler, sehingga mungkin mengurangi kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dan meminimalisir destruksi jaringan pada waktu luka bakar terjadi serta mempercepat proses penyembuhan luka.

Oksigen berperan penting dalam proses penyembuhan luka, seperti *oxidative bacterial killing*, *collagen synthesis*, *angiogenesis* dan *epithelialization*, dengan kata lain proses penyembuhan luka tidak dapat terjadi dalam kondisi hipoksia. Neutrofil dan makrofag yang muncul di area luka pada fase inflamasi akan menghasilkan sejumlah besar ROS bersamaan dengan sitokin pro-inflamasi dan enzim proteolitik seperti MMP yang menyebabkan produksi *superoxide radical anions* dalam jumlah besar. Keberadaan ROS secara langsung berperan untuk menyerang patogen dan fagositosis. Namun, jumlah ROS yang terlalu banyak akan mengakibatkan kerusakan jaringan di sekitarnya. Ketidakseimbangan antara jumlah prooksidan (*superoxide radical anion*) dan antioksidan (salah satunya enzim SOD) menyebabkan stres oksidatif yang berujung pada kerusakan jaringan normal di sekitar luka.

Pemberian antioksidan pada kondisi stres oksidatif berfungsi untuk menyeimbangkan jumlah prooksidan dan antioksidan, sehingga *superoxide*

radical anion akan didismutase menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan molekul oksigen oleh enzim SOD. Jumlah H_2O_2 dalam jumlah rendah dapat membantu produksi VEGF pada keratinosit, sehingga mempercepat angiogenesis, memicu aktivasi EGF dan KGF yang dapat mendukung migrasi dan proliferasi sel-sel epidermal dan menginduksi produksi TGF- α di dalam fibroblast pada proses re-epitelisasi (Kurahashi dan Fujii, 2015).

Penyembuhan luka bakar pada kelompok terapi menunjukkan proses yang lebih cepat dibandingkan kelompok kontrol positif akibat kandungan antiinflamasi dan antioksidan di dalam daun singkong yang mampu menekan kondisi stres oksidatif dan meningkatkan kadar enzim SOD, serta mempercepat proses re-epitelisasi dengan hasil terbaik ditunjukkan oleh kelompok terapi 12%.