



**EFEKTIVITAS MEMBRAN EDAMAME TERHADAP KADAR
HIDROKSIPROLIN SERIAL DALAM PENYEMBUHAN
LUKA BAKAR DERAJAT IIB**

SKRIPSI

Oleh

**Bella Saphira Evani
NIM 162010101044**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2020**



**EFEKTIVITAS MEMBRAN EDAMAME TERHADAP KADAR
HIDROKSIPROLIN SERIAL DALAM PENYEMBUHAN
LUKA BAKAR DERAJAT IIB**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

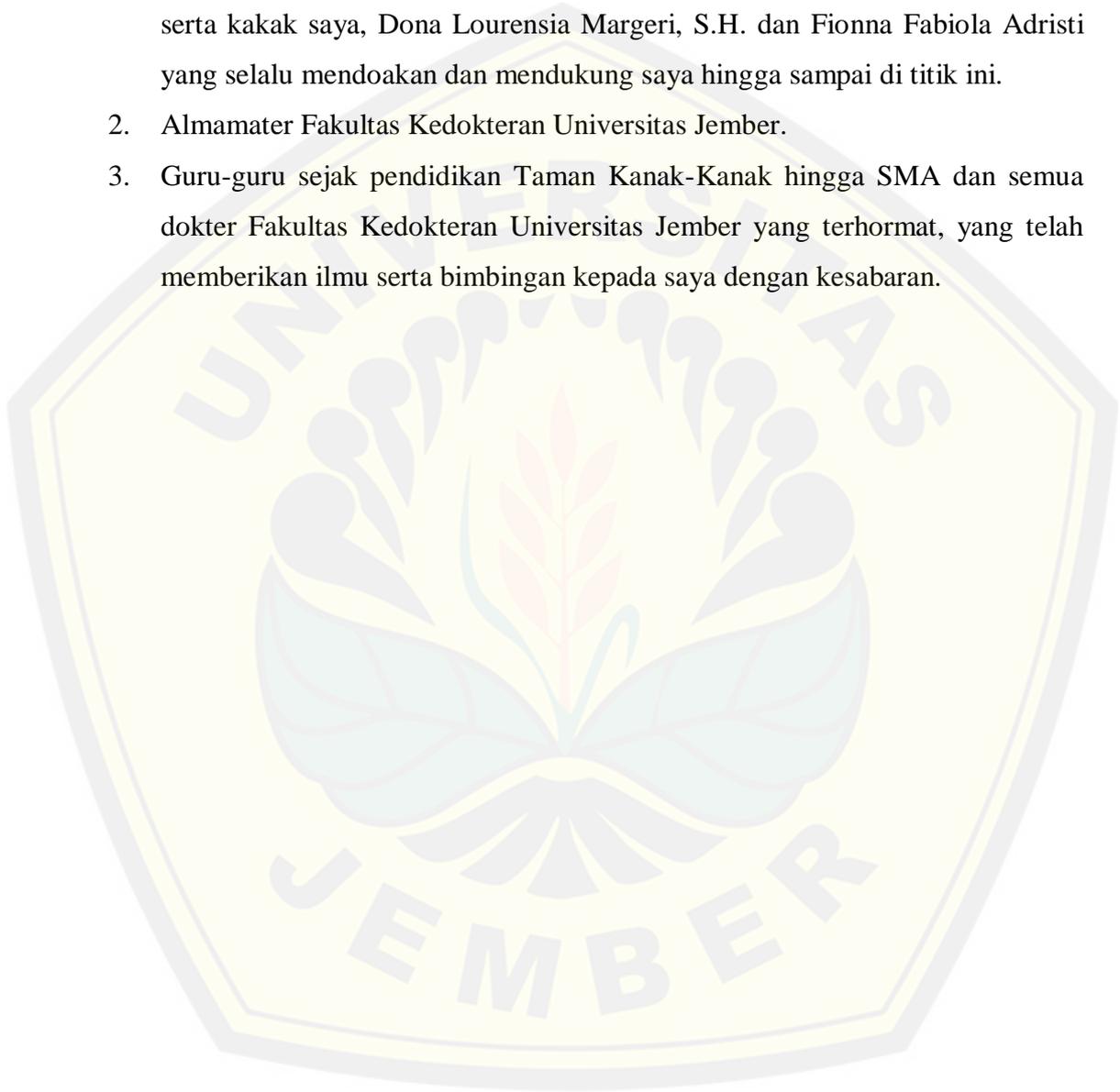
Bella Saphira Evani
NIM 162010101044

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2020

PERSEMBAHAN

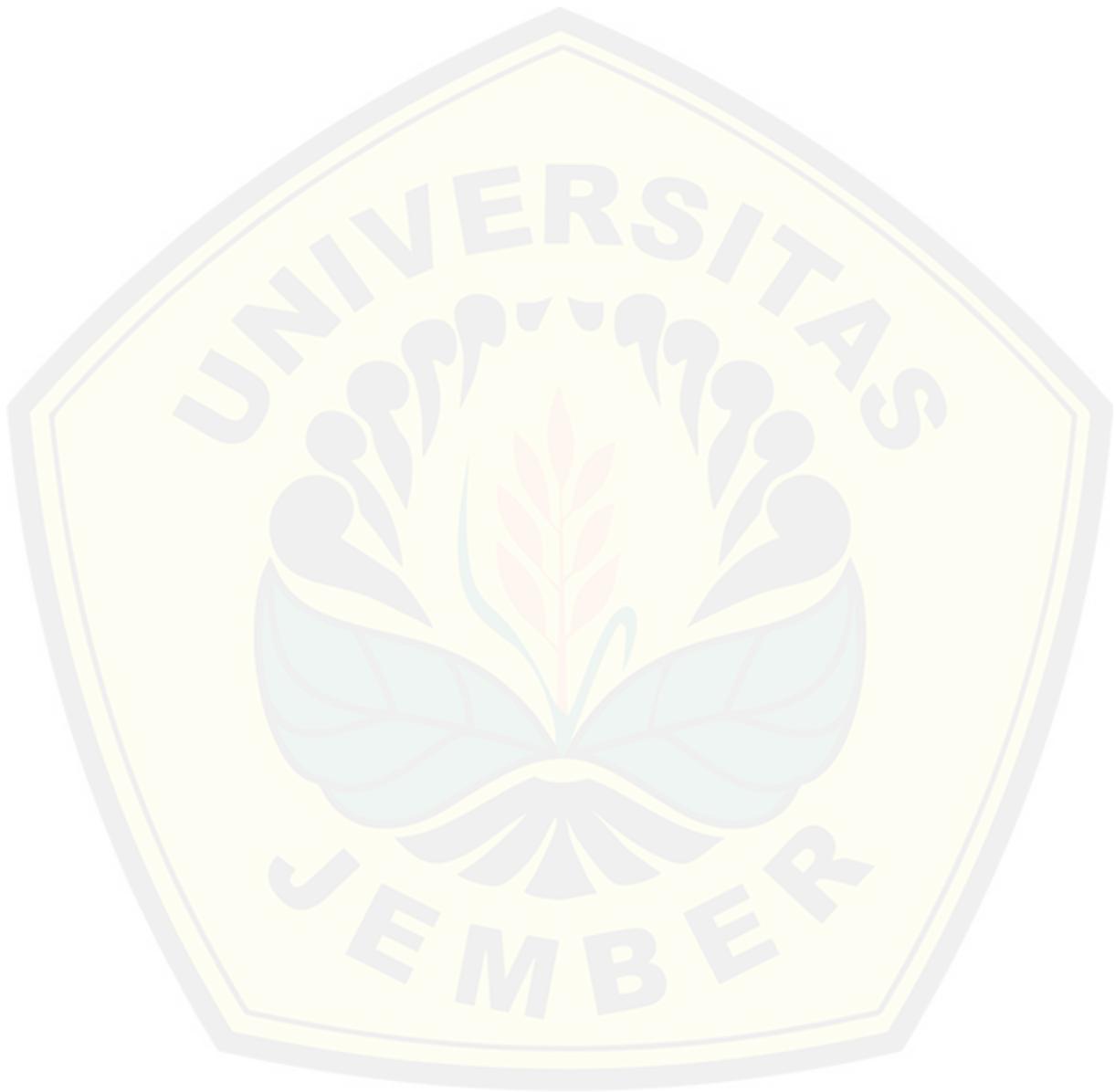
Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tua saya, Papa Dody Wahyudi dan Mama Helen Christalina, serta kakak saya, Dona Lourensia Margeri, S.H. dan Fionna Fabiola Adristi yang selalu mendoakan dan mendukung saya hingga sampai di titik ini.
2. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
3. Guru-guru sejak pendidikan Taman Kanak-Kanak hingga SMA dan semua dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang terhormat, yang telah memberikan ilmu serta bimbingan kepada saya dengan kesabaran.



MOTO

“Masa depan yang baik dimulai dari perjuangan yang baik hari ini.”



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Bella Saphira Evani

NIM : 162010101044

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Efektivitas Membran Edamame terhadap Kadar Hidroksiprolin Serial dalam Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIB” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 20 Maret 2020

Yang menyatakan,

(Bella Saphira Evani)

NIM 162010101044

SKRIPSI

**EFEKTIVITAS MEMBRAN EDAMAME TERHADAP KADAR
HIDROKSIPROLIN SERIAL DALAM PENYEMBUHAN
LUKA BAKAR DERAJAT IIB**



Oleh

Bella Saphira Evani
NIM 162010101044

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Ika Rahmawati Sutejo, M. Biotech

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Desie Dwi Wisudanti, M. Biomed

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efektivitas Membran Edamame terhadap Kadar Hidroksiprolin Serial dalam Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIB” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Jum’at, 20 Maret 2020

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji,

Ketua,

Anggota I,

dr. Ulfa Elfiah, M.Kes., Sp. BP-RE (K) Burn

NIP. 19760719 200112 2 001

dr. Zahrah Febianti, M. Biomed

NIP. 19880202 201404 2 001

Anggota II,

Anggota III,

dr. Ika Rahmawati S, M. Biotech

NIP. 19840819 200912 2 003

dr. Desie Dwi Wisudanti, M. Biomed

NIP. 19821211 200812 1 001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp. BA

NIP. 19730424 199903 1 002

RINGKASAN

Efektivitas Membran Edamame terhadap Kadar Hidroksiprolin Serial pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIB; Bella Saphira Evani, 162010101044; 2020; Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Luka bakar merupakan masalah kesehatan global dengan angka kematian sekitar 180.000 korban setiap tahunnya di seluruh dunia. Menurut penelitian di Unit Luka Bakar Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo (RSCM) tahun 2013-2015 prevalensi tertinggi adalah luka bakar derajat III sebanyak 275 orang, kemudian disusul oleh luka bakar derajat IIB sebanyak 104 orang. Luka bakar derajat IIB dapat bertambah parah menjadi luka bakar derajat III apabila tidak mendapatkan perawatan yang adekuat.

Penanganan *gold standard* luka bakar derajat IIB adalah eksisi awal dan *skin grafting*. Namun penanganan tersebut masih menjadi suatu masalah di Indonesia disebabkan oleh biaya penanganan yang tinggi, perawatan dan rehabilitasi yang lama, serta diperlukannya tenaga medis yang terlatih dan terampil, sehingga saat ini beberapa layanan luka bakar masih menggunakan perawatan konvensional, yaitu dengan obat standar *silver sulfadiazine* (SSD). SSD pemakaian jangka panjang menimbulkan efek samping yaitu terbentuknya 'pseudo-eskar' pada permukaan luka. Selain itu, SSD memiliki durasi kerja yang relatif singkat sehingga perlu diaplikasikan lebih dari satu kali dalam sehari. Oleh karena itu diperlukan alternatif terapi topikal yang dapat diaplikasikan dalam waktu lebih lama, murah dan efektif seperti menggunakan membran edamame yang telah diteliti secara laboratorium berkhasiat dalam penyembuhan luka bakar.

Edamame mengandung senyawa isoflavon yang bersifat antioksidan, antiinflamasi, dan antimikroba. Selain itu, edamame juga mengandung vitamin A, C, dan E yang dapat membantu proses penyembuhan luka. Salah satu indikator proses penyembuhan luka bakar yaitu hasil pengukuran kadar hidroksiprolin kulit. Luka bakar yang berhasil sembuh dikonfirmasi dengan kadar hidroksiprolin yang semakin tinggi pada fase proliferasi dan menurun pada fase akhir proliferasi. Oleh karena itu, peneliti ingin melakukan penelitian untuk mengetahui efektivitas membran edamame terhadap penyembuhan luka bakar derajat IIB dengan kadar hidroksiprolin yang terbentuk.

Jenis penelitian ini adalah *true experimental laboratories* dengan rancangan *posttest only control group design*. Sampel yang digunakan adalah tikus galur *wistar* jantan berusia 3-4 bulan dengan berat 250-300 gram yang memiliki kulit yang normal. Tikus sebanyak 48 ekor terbagi menjadi 4 kelompok perlakuan. Kelompok kontrol negatif (K-) diberi membran tanpa ekstrak edamame, kelompok kontrol positif (K+) diberi *silver sulfadiazine*, kelompok perlakuan P1 dan P2 diberi membran dengan konsentrasi ekstrak edamame 40% dan 60%. Pembuatan luka bakar derajat IIB dengan menempelkan besi aluminium seluas 2 x 2 cm yang telah dipanaskan dengan suhu 70°C pada punggung tikus selama 5 detik. Setelah luka bakar terbentuk, maka dilakukan perawatan luka

sesuai kelompok. Pada hari ke-4, 10, dan 16 tikus diterminasi dan diambil jaringan kulitnya untuk dianalisis kadar hidroksiprolinnya. Kadar hidroksiprolin diukur serapannya pada panjang gelombang 557 nm menggunakan spektrofotometer. Jumlah hidroksiprolin dalam sampel dihitung berdasar kurva standar hidroksiprolin.

Pada penelitian ini didapatkan rerata kadar hidroksiprolin pada hari ke-4 pada K+; K-; P1; P2 berturut-turut dalam satuan $\mu\text{g}/100 \text{ mg}$ yaitu 5198; 2625; 6368; 7708. Pada hari ke-10 yakni 9681; 7320; 9858; 12213 dan pada hari ke-16 6575; 9125; 3660; 3288. Kadar hidroksiprolin kelompok K+, P1, dan P2 berhasil meningkat dari hari ke-4 sampai hari ke-10, kemudian kadar akan turun di hari ke-16. Namun, kadar hidroksiprolin kelompok K- konsisten meningkat dari hari ke-4 sampai hari ke-16. Hal ini menunjukkan adanya perlambatan fase proliferasi sehingga kadar hidroksiprolin belum turun. Secara makroskopis, persentase penyusutan luas luka pada K+; K-; P1; P2 berturut-turut adalah 74,12%; 49,68%; 75,25%; 79,18%. P2 menghasilkan persentase penyusutan luas luka yang terbesar, sehingga P2 merupakan kelompok yang paling baik dalam penyembuhan luka. Berdasarkan hasil tersebut, membran edamame dapat menghasilkan penyembuhan luka yang baik dalam 16 hari dibandingkan dengan terapi menggunakan ekstrak edamame kasar yang memerlukan waktu penyembuhan lebih lama. Selain itu, membran edamame dapat memberikan kelembapan yang tahan lama sehingga tidak perlu diaplikasikan setiap hari, melainkan hanya tiga hari sekali.

Hasil uji normalitas menunjukkan data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan homogen. Data tersebut selanjutnya dianalisis dengan menggunakan uji anova dan didapatkan nilai $p < 0,05$ yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pada awal fase proliferasi kadar hidroksiprolin akan meningkat sampai mencapai kadar tertinggi, lalu turun di akhir fase proliferasi. Saran peneliti untuk penelitian selanjutnya adalah perhitungan kadar hidroksiprolin sebaiknya dilakukan minimal lima kali, untuk membentuk grafik parabola yang sempurna sehingga dapat diketahui pada hari ke berapa kadar hidroksiprolin mulai turun. Penelitian mengenai evaluasi luka bakar sebaiknya dilakukan selama 21 hari untuk melihat penutupan luka dan adanya pembentukan *scar*. Selain itu, penelitian dengan membran sebaiknya dibandingkan dengan *tulle* yang mempunyai basis sediaan yang sama.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efektivitas Membran Edamame terhadap Kadar Hidroksiprolin dalam Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIB”. Skripsi ini disusun guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. DR. Ir. Iwan Taruna, M. Eng., selaku Rektor Universitas Jember atas segala kesempatan yang diberikan untuk menempuh pendidikan di universitas Jember;
2. dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp.BA., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas serta kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
3. dr. Ika Rahmawati S, M. Biotech dan dr. Desie Dwi Wisudanti, M. Biomed., selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, serta perhatian dalam membimbing penulisan tugas akhir ini;
4. dr. Ulfa Elfiah, M.Kes., Sp.BP-RE (K) Burn dan dr. Zahrah Febianti, M. Biomed., selaku Dosen Penguji yang telah memberikan kritik dan saran membangun dalam penyusunan skripsi ini;
5. DR. dr. Yunita Armiyanti, M.Kes., selaku Koordinator KTI yang telah menyetujui penyusunan skripsi ini;
6. Papa Dody Wahyudi, Mama Helen Christalina, yang selalu memberikan dukungan doa, moral, serta materi mulai saya kecil hingga sampai di titik ini;
7. Kakak-adik saya, yaitu Dona Lourensia Margeri, S.H. dan Fionna Fabiola Adristi, yang selalu memberikan dukungan doa dan semangat agar dapat segera lulus dan dapat bersama-sama membanggakan kedua orang tua;
8. Teman-teman seperjuangan saya dalam menghadapi suka duka dunia pre-klinik di Fakultas Kedokteran Universitas Jember, yaitu Rachel Fellensia, M.

Alif Taryafi, Rahma Perwita, Astuti Setyawardhani, Moch. Luthfan Fahmi Masduqie, Giovani Gianosa, I. Made Putra Wira, Nurul Indah Saffanah, Awalya Rahma Putri;

9. Sahabat saya dari Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Balqis Salsabila dan Anya Tania Larasati, yang selalu memberikan semangat berpikir positif kepada saya dalam menghadapi segala rintangan sejak SMA hingga pengerjaan skripsi saat ini;
10. Teman-teman seperjuangan saya dalam mengerjakan skripsi bagian Lab. Biokimia, yaitu Sus Faradila Yusmi dan Anisa Nurul, yang selalu memotivasi dan saling memberi semangat untuk rajin konsultasi skripsi;
11. Mbak Nurul Istinaroh selaku analis Laboratorium Biokimia yang telah memberikan bantuan dalam penelitian ini;
12. 128 orang hebat yang terkumpul dalam komunitas bernama LIGAMEN, sejawat angkatan 2016 Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang selalu bersama-sama sejak mahasiswa baru hingga kelak menjadi dokter yang dapat membanggakan almamater;
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 20 Maret 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Luka Bakar	5
2.1.1 Klasifikasi Luka Bakar	5
2.1.2 Patofisiologi Luka Bakar	8
2.1.3 Proses Penyembuhan Luka Bakar	9
2.1.4 Penatalaksanaan Luka Bakar.....	11
2.2 Membran Balut Luka	13
2.3 Edamame	16
2.3.1 Taksonomi.....	16
2.3.2 Morfologi	17
2.3.3 Kandungan Edamame	17
2.3.4 Manfaat Edamame	18
2.3.5 Ekstrak Edamame	19
2.4 Hidroksiprolin	19
2.5 Kerangka Konsep Penelitian	22
2.6 Hipotesis Penelitian	23
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	23
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	23
3.2 Hewan Coba Penelitian	24
3.2.1 Kriteria Hewan Coba.....	24
3.2.2 Jumlah Replikasi	24
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian	25
3.4 Variabel Penelitian	25

3.4.1 Variabel Bebas.....	25
3.4.2 Variabel Terikat.....	26
3.4.3 Variabel Terkendali	26
3.5 Definisi Operasional	26
3.6 Alat dan Bahan	27
3.6.1 Alat	27
3.6.2 Bahan	28
3.7 Prosedur Penelitian	28
3.7.1 Uji Kelayakan Etik	28
3.7.2 Pemilihan Sampel Tikus	29
3.7.3 Pembagian Kelompok dan Pemeliharaan Hewan Coba.....	29
3.7.4 Pembuatan Ekstrak Edamame	29
3.7.5 Pembuatan Membran Edamame.....	30
3.7.6 Persiapan Bahan Baku dan Peraksi.....	31
3.7.7 Tahap Perlakuan	32
3.7.8 Pengambilan dan Pengolahan Jaringan Kulit.....	33
3.7.9 Pengukuran Kadar Hidroksiprolin.....	34
3.8 Analisis Data	35
3.9 Alur Penelitian.....	36
3.9.1 Alur Pembuatan Membran Edamame.....	36
3.9.2 Alur Perlakuan Hewan Coba.....	37
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	38
4.1 Hasil Penelitian.....	38
4.1.1 Luka Bakar Pada Tikus	38
4.1.2 Hasil Pengamatan	39
4.2 Analisis Data	41
4.3 Pembahasan	43
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	48
5.1 Kesimpulan	48
5.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	56

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Tingkat keparahan luka bakar.....	7
3.1 Definisi operasional.....	26
3.2 Formula basis gel untuk membran edamame.....	30
3.3 Pengenceran larutan hidroksiprolin standar.....	32
4.1 Rata-rata luas luka.....	39
4.2 Nilai rata-rata kadar hidroksiprolin.....	41
4.3 Hasil LSD kadar hidroksiprolin hari ke-4.....	42
4.4 Hasil LSD kadar hidroksiprolin hari ke-10.....	42
4.5 Hasil LSD kadar hidroksiprolin hari ke-16.....	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Kedalaman luka bakar.....	6
2.2 Luas luka bakar.....	8
2.3 Zona luka bakar.....	9
2.4 Morfologi edamame.....	17
2.5 Grafik kadar hidroksiprolin.....	20
2.6 Kerangka konsep penelitian.....	22
3.1 Skema rancangan penelitian.....	24
3.2 Alur pembuatan membran edamame.....	36
3.3 Alur penelitian hewan coba.....	37
4.1 Luka bakar derajat IIB hari pertama.....	38
4.2 Proses penyembuhan luka pada kelompok perlakuan.....	39
4.3 Grafik perubahan rata-rata kadar hidroksiprolin.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 3.1 Etik Penelitian.....	56
Lampiran 3.2 Determinasi Tanaman Edamame.....	59
Lampiran 3.3 Pembuatan Membran Edamame.....	61
Lampiran 3.4 Pembagian Kelompok Hewan Coba.....	65
Lampiran 4.1 Proses Ekstraksi Biji Edamame.....	66
Lampiran 4.2 Pengukuran Luas Luka.....	67
Lampiran 4.3 Pengukuran Kadar Hidroksiprolin.....	69
Lampiran 4.4 Kurva Standar Hidroksiprolin.....	71
Lampiran 4.5 Hasil Analisis Data Kadar Hidroksiprolin.....	72
Lampiran 4.6 Hasil Analisis Data Luas Luka.....	77
Lampiran 4.7 Dokumentasi Penelitian.....	80
Lampiran 4.8 Surat Rekomendasi Bebas Plagiasi.....	82

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka bakar merupakan masalah kesehatan global dengan angka kematian sekitar 180.000 korban setiap tahunnya di seluruh dunia (WHO, 2018). Angka mortalitas tertinggi dialami oleh negara berpendapatan menengah ke-bawah, seperti negara di Afrika dan Asia Tenggara. Belum ada angka pasti mengenai kasus luka bakar di seluruh Indonesia, namun dengan bertambahnya penduduk dan jumlah industri, angka luka bakar diperkirakan meningkat (Sjamsuhidajat dan Jong, 2017). Menurut perhimpunan luka bakar dan penyembuhan luka Indonesia tahun 2015, tercatat sebanyak 3.518 kasus luka bakar di 14 rumah sakit besar di Indonesia sepanjang tahun 2012-2014 (Roska, 2018). Selain itu, berdasarkan data kasus luka bakar di RSUD dr. Soebandi Kabupaten Jember dalam kurun waktu 2014-2016 tercatat sebanyak 70 pasien mengalami luka bakar dan 10% pasien di antaranya meninggal karena sepsis dan ARDS (Elfiah dan Riasa, 2017).

American Burn Association tahun 2009 membagi luka bakar menjadi empat kelompok berdasarkan kedalamannya, yaitu luka bakar derajat I (*epidermal burn*), IIA (*superficial-partial burn*), IIB (*deep-partial burn*), dan III (*full-thickness burn*). Prevalensi tertinggi kejadian luka bakar di Unit Luka Bakar Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo (RSCM) tahun 2013-2015 adalah luka bakar derajat III sebanyak 275 orang, kemudian disusul oleh luka bakar derajat IIB sebanyak 104 orang (Wardhana *et al.*, 2017). Luka bakar derajat IIB dapat bertambah parah menjadi luka bakar derajat III apabila tidak mendapatkan perawatan yang adekuat, sehingga dapat menyebabkan komplikasi seperti kontraktur, sepsis, *distress* pernapasan, bahkan kematian (Poranki *et al.*, 2016).

Tujuan utama perawatan luka bakar adalah pencegahan infeksi, karena infeksi menghambat proses penyembuhan luka itu sendiri (ISBI, 2016). Eksisi awal dan *skin grafting* merupakan *gold standard* dari penanganan luka bakar derajat IIB yang mampu mengurangi risiko infeksi (Rowan *et al.*, 2015). Penanganan luka bakar dengan *skin grafting* masih menjadi suatu masalah di

Indonesia disebabkan oleh biaya penanganan yang tinggi, perawatan dan rehabilitasi yang lama, serta diperlukannya tenaga medis yang terlatih dan terampil (Giovany *et al.*, 2015). Beberapa layanan luka bakar masih menggunakan perawatan konvensional, yaitu *silver sulfadiazine* yang merupakan obat golongan sulfa berupa krim yang bersifat bakteriostatik berspektrum luas (Susila *et al.*, 2014). Krim SSD mampu mengurangi tingkat infeksi pasien luka bakar derajat II dan III, namun pemakaian SSD jangka panjang dapat menimbulkan efek samping yaitu terbentuknya ‘pseudo-eskar’ pada permukaan luka. Selain itu, SSD memiliki durasi kerja yang relatif singkat sehingga perlu diaplikasikan lebih dari satu kali dalam sehari (ISBI, 2016). Melihat berbagai masalah tersebut, peneliti mengajukan sebuah alternatif terapi topikal yang dapat diaplikasikan dalam waktu lebih lama, murah dan efektif seperti menggunakan membran edamame yang telah diteliti secara laboratorium berkhasiat dalam penyembuhan luka bakar.

Edamame merupakan salah satu komoditas unggulan Kabupaten Jember yang telah menembus pasar internasional (Firmansyah dan Dhuha, 2014). Menurut Widati dan Hidayat (2018), biji edamame mengandung protein, kalsium, kalium, asam askorbik, zat besi, vitamin A, B1, C, E, dan isoflavon yang tinggi. Isoflavon utama pada biji edamame, yaitu genistein berkhasiat sebagai antifungi, antioksidan, antibakteri dan antiinflamasi (Raffa *et al.*, 2017). Menurut penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Hasanah (2018) ekstrak edamame mampu menyembuhkan luka bakar derajat II. Kandungan edamame di dalam bentuk sediaan yang tepat diharapkan mampu mempercepat proses penyembuhan luka. Kasa steril yang diresapi oleh ekstrak biji edamame akan membentuk suatu membran hidrofilik yang dapat menciptakan suasana lembap pada luka lebih lama, yaitu selama 3-4 hari. Selain itu, membran dengan kandungan air yang tinggi mampu memberikan rasa nyaman pada area luka dan tidak menimbulkan trauma baru ketika dilepas.

Penyembuhan luka terdiri dari tiga fase, yakni fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi. Pada fase proliferasi, fibroblas akan bergerak menuju ke area luka dan memproduksi kolagen dalam jumlah banyak sehingga luka menutup. Keberadaan kolagen merupakan tanda awal adanya proses

penyembuhan luka. Hidroksiprolin merupakan salah satu asam amino terbanyak dalam kolagen. Hidroksiprolin hanya ditemukan di dalam kolagen dan elastin saja, dengan persentase 93,2% di dalam kolagen dan 6,8% di dalam elastin (Stoilov *et al.*, 2017). Oleh karena itu, hidroksiprolin dapat dijadikan sebagai *marker* biokimia dari adanya kolagen, sebagai indikasi adanya progres penyembuhan luka (Kokane *et al.*, 2009; Nayak *et al.*, 2011). Luka bakar yang berhasil sembuh dikonfirmasi dengan kadar hidroksiprolin yang semakin tinggi pada fase proliferasi dan menurun pada fase akhir proliferasi (Caetano *et al.*, 2016).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang tersebut, rumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah pemberian membran edamame dapat mempengaruhi kadar hidroksiprolin serial (hari ke-4, 10, 16) dalam proses penyembuhan luka bakar derajat IIB ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh membran edamame pada kadar hidroksiprolin dalam proses penyembuhan luka bakar derajat IIB hari ke-4, 10, dan 16.

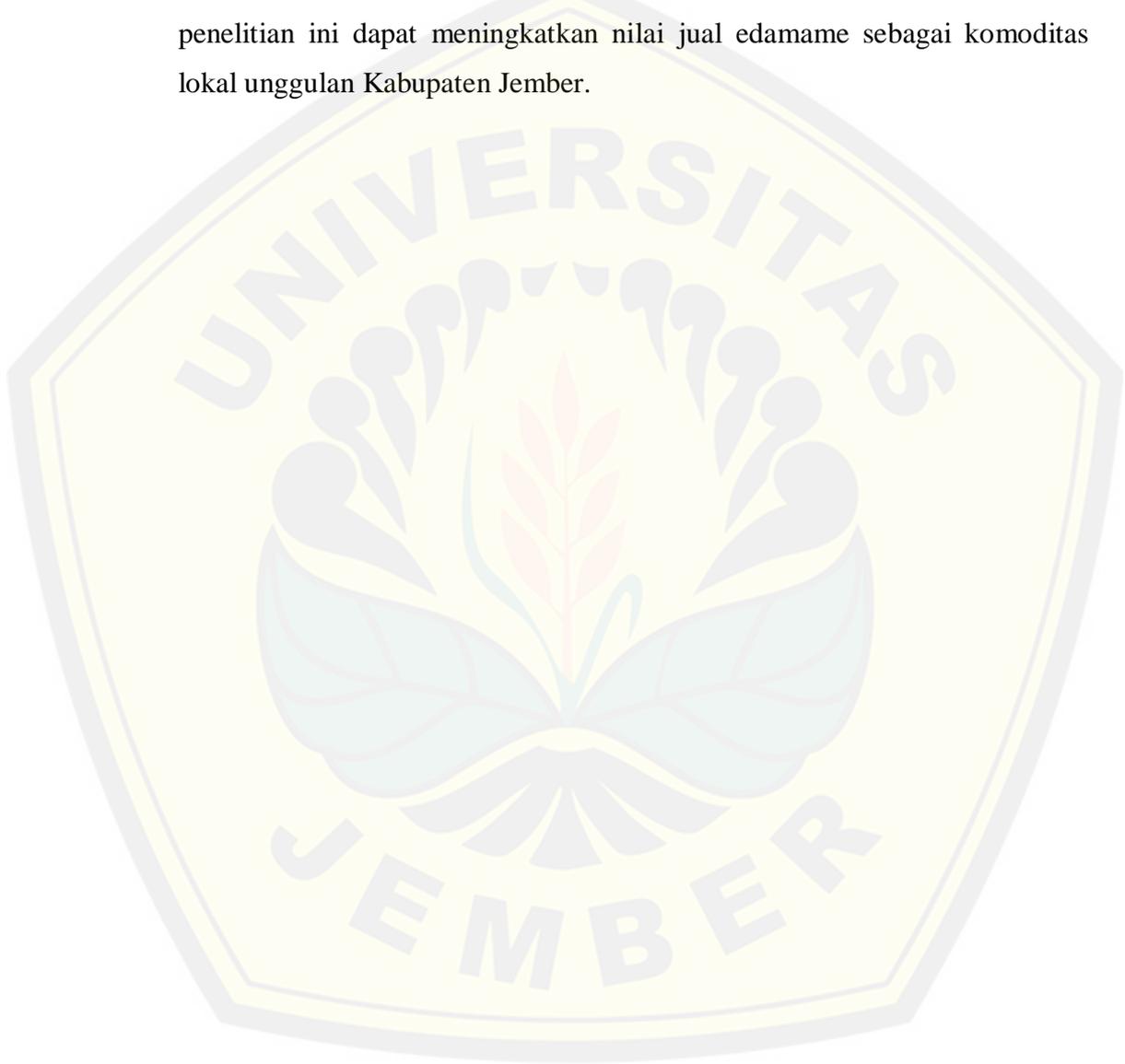
1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh membran edamame dalam proses penyembuhan luka bakar derajat IIB ditinjau dari pengamatan makroskopis yaitu persentase penyusutan luas luka.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini diantaranya:

- a. Manfaat keilmuan, penelitian ini bermanfaat untuk memberikan sumbangsih keilmuan mekanisme dan bukti dalam bidang ilmiah mengenai membran edamame untuk pengobatan luka bakar derajat IIB.
- b. Manfaat aplikatif, penelitian ini bermanfaat untuk menambah ilmu pengetahuan mengenai terapi alternatif luka bakar derajat IIB. Selain itu, penelitian ini dapat meningkatkan nilai jual edamame sebagai komoditas lokal unggulan Kabupaten Jember.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Luka Bakar

Luka bakar merupakan reaksi kulit dan jaringan subkutan terhadap trauma suhu atau termal. Penyebab tersering luka bakar adalah trauma suhu yang berasal dari sumber panas yang kering (api, logam panas) atau lembap (cairan atau gas panas), listrik, bahan kimia (biasanya terjadi pada kecelakaan industri akibat trauma asam atau basa kuat), dan radiasi (Smeltzer dan Bare, 2010). Luka bakar tidak hanya merusak kulit, namun luka bakar yang berat dapat menyerang jaringan otot, tulang, dan pembuluh darah.

2.1.1 Klasifikasi Luka Bakar

Luka bakar dapat diklasifikasikan berdasarkan kedalaman luka bakar atau berdasarkan luas luka bakar (Febrianto, 2016). Berdasarkan kedalaman luka, *American Burn Association* (2009) membagi luka bakar menjadi tiga kategori seperti pada Gambar 2.1, yaitu:

a. Derajat I (*Superficial* atau *Epidermal Burn*)

Kerusakan jaringan terbatas pada lapisan epidermis saja, luka bakar menimbulkan kulit menjadi hiperemik atau eritema, sedikit edema, tidak dijumpai bula dan terasa nyeri karena ujung saraf sensoris mengalami trauma. Luka bakar derajat ini biasanya disebabkan oleh paparan sinar matahari yang terlalu lama, kontak singkat dengan benda panas atau terkena percikan api. Luka bakar pada derajat ini biasanya akan membaik secara spontan pada hari ke-4 setelah trauma.

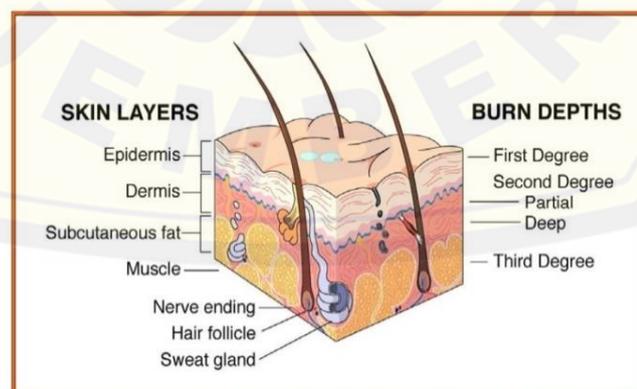
b. Derajat II (*Partial Thickness Burn*)

Luka bakar derajat II ini dibagi menjadi dua tipe berdasarkan kedalaman dermis yang terluka, yaitu: *superficial partial-thickness* (IIA) dan *deep partial-thickness burn* (IIB). Luka bakar derajat IIA dan IIB berbeda dalam penampilan, kemampuan kesembuhan, dan kebutuhan untuk dilakukan debridemen dan cangkok kulit. Pada luka bakar derajat IIA, seluruh lapisan epidermis dan sebagian kecil lapisan dermis telah hancur. Lesi derajat ini

berwarna merah muda, basah, dan sangat nyeri oleh karena kerusakan pada ujung saraf yang terletak di lapisan dermis bagian tengah. Selain itu, bula dapat muncul pada area lesi. Penyembuhan luka bakar derajat IIA berlangsung cepat, yaitu selama kurang-lebih 2 minggu dan jarang sekali menimbulkan jaringan parut, melainkan menyebabkan perubahan warna karena hiperpigmentasi. Berbeda dengan luka bakar derajat IIA, luka bakar derajat IIB menghancurkan seluruh lapisan epidermis dan retikular dermis. Luka pada derajat ini memiliki lesi yang kering, berwarna putih disertai bintik-bintik merah muda, dan muncul bula. Bahkan saat tidak ada infeksi yang terjadi setelah cedera, luka bakar derajat IIB memerlukan waktu lebih dari 3 minggu untuk sembuh. Perpanjangan fase inflamasi dan proliferasi serta tertundanya penutupan luka menyebabkan jaringan parut dan kontraktur pada luka bakar derajat IIB, sehingga perlu dilakukan debridemen luka dan cangkok kulit (Pan, 2013).

c. Derajat III (*Full-Thickness Burn*)

Kerusakan jaringan permanen yang meliputi seluruh lapisan kulit dan jaringan subkutan. Tidak dijumpai bula, kulit yang terbakar berwarna keabu-abuan pucat hingga hitam kering (nekrotik), Luka bakar derajat ini tidak terdapat nyeri karena ujung-ujung saraf sensoris mengalami kerusakan yang cukup parah sehingga terjadi hilangnya sensasi. Tatalaksana dari luka bakar derajat III adalah *skin graft* atau cangkok kulit.



Gambar 2.1 Kedalaman luka bakar (Sumber: *American Burn Association*, 2009)

Penentuan luas luka bakar untuk dewasa dengan bantuan *rule of nine* Wallace membagi sebagai berikut: kepala dan leher 9%, lengan 18%, tungkai

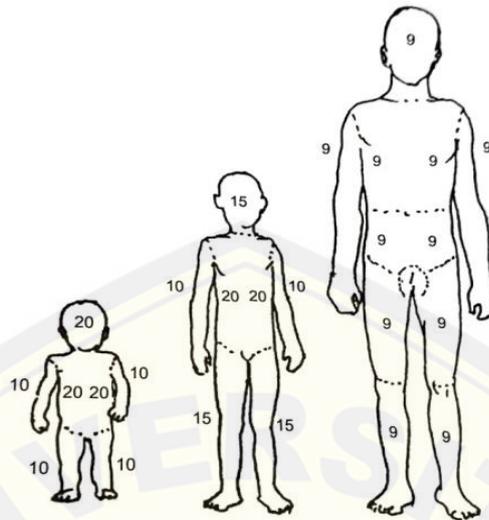
36%, dan genitalia/perineum 1% (Yapa, 2009). Pada anak dan bayi digunakan rumus lain karena luas relatif permukaan kepala anak lebih besar. Pada anak digunakan rumus 10-15-20, sedangkan pada bayi dikenal dengan rumus 10. Untuk anak-anak, kepala dan leher 15%, badan depan dan belakang masing-masing 20%, ekstremitas atas kanan dan kiri masing-masing 10%, ekstremitas bawah kanan dan kiri masing-masing 15% (lihat Gambar 2.2).

Menurut *American Burn Association* (2009), luka bakar dapat diklasifikasikan menjadi 3 berdasarkan berat ringannya, seperti pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Tingkat keparahan luka bakar

Luka Bakar Ringan	Luka Bakar Sedang	Luka Bakar Berat
Luka bakar dengan luas < 15% pada dewasa,	Luka bakar dengan luas 15-25% pada dewasa	Derajat II-III > 20% pada pasien usia < 10 tahun atau > 50 tahun.
Luka bakar dengan luas < 10% pada anak	Luka bakar dengan luas 10-20% pada usia < 10 tahun dan > 40 tahun	Derajat II-III > 25% pada kelompok usia lain.
Luka bakar dengan luas < 2% pada segala usia, tetapi luka tidak mengenai muka, tangan, dan perineum.	Luka bakar derajat III < 10% pada anak maupun dewasa yang tidak mengenai muka, tangan, kaki, perineum.	Luka bakar pada muka, telinga, tangan, kaki, dan perineum.
		Terdapat cedera inhalasi, luka bakar akibat listrik tekanan tinggi.

Sumber: *American Burn Association*, 2009.

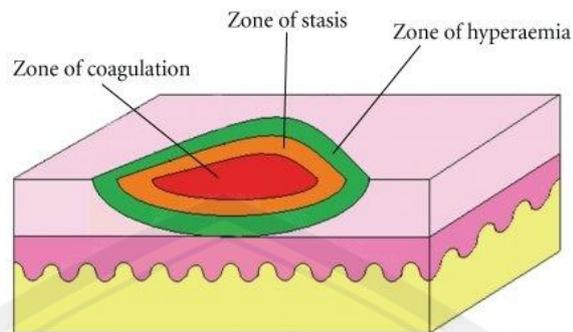


(a) Rumus 10 untuk bayi; (b) Rumus 10-15-20 untuk anak;
(c) Rumus 9 untuk orang dewasa

Gambar 2.2 Luas luka bakar (Sumber : Sjamsuhidajat & de Jong, 2017)

2.1.2 Patofisiologi Luka Bakar

Luka bakar dikelompokkan menjadi tiga zona berdasarkan derajat kerusakan jaringan dan perubahan pada aliran darah. Pada bagian pusat atau tengah luka disebut sebagai zona koagulasi, yaitu zona yang paling banyak terpapar panas dan mengalami kerusakan berat. Panas berlebih pada tempat luka akan mengakibatkan denaturasi protein, degradasi, dan koagulasi yang mampu menyebabkan nekrosis jaringan. Di luar zona koagulasi terdapat zona statis atau zona iskemik yang ditandai dengan menurunnya perfusi jaringan. Zona stasis merupakan zona yang berpotensi untuk dilakukan penyelamatan jaringan. Namun, apabila dalam waktu 48 jam pasca trauma luka bakar tidak dilakukan pertolongan, zona statis akan mengalami apoptosis dan nekrosis (Nisanci *et al.*, 2010). Pada daerah paling luar yaitu zona hiperemis, merupakan zona yang menerima peningkatan aliran darah melalui vasodilatasi inflamasi. Zona luka bakar dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Zona luka bakar (Sumber : Gandhi *et al.*, 2010)

Menurut Sjamsuhidajat dan De Jong (2017), luka bakar itu tidak steril, karena kulit yang mati dapat menjadi media bagi pertumbuhan kuman sehingga mengakibatkan infeksi. Infeksi ringan dan noninvasif (tidak dalam) ditandai dengan kerak yang mudah terlepas dan nanah yang banyak, sedangkan infeksi invasif ditandai dengan kerak yang kering dan berubah menjadi nekrotik (luka bakar derajat tiga). Bila penderita dapat mengatasi infeksi, luka bakar derajat dua dapat sembuh dengan meninggalkan jaringan parut hipertrofik. Sedangkan penderita yang sembuh dari luka bakar derajat tiga, akan terjadi kontraktur yang apabila terjadi di persendian akan menyebabkan berkurangnya atau hilangnya fungsi sendi. Selain itu, luka bakar memicu terjadinya kehilangan cairan tubuh karena permeabilitas pembuluh darah meningkat sehingga terjadi perpindahan cairan dari intravaskuler ke ekstravaskuler. Kebocoran kapiler tubuh menyebabkan tubuh kehilangan natrium, air, klorida, kalium dan protein plasma. Kemudian terjadi edema menyeluruh dan dapat berlanjut pada syok hipovolemik apabila tidak segera ditangani.

2.1.3 Proses Penyembuhan Luka Bakar

Menurut Tiwari (2012), terdapat tiga fase yang terjadi pada proses penyembuhan luka bakar, yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan maturasi (*remodeling*). Ketiga fase ini sama terjadi untuk semua jenis luka, hanya terdapat perbedaan durasi pada tiap fase.

a. Fase Inflamasi:

Setelah terjadinya luka, reaksi inflamasi tubuh dimulai yang terdiri dari komponen vaskular dan seluler:

- 1) Reaksi vaskular terjadi sesaat setelah trauma luka bakar yang ditandai dengan adanya vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas kapiler yang akan memicu ekstravasasi cairan ke ruangan interstisial (Tiwari, 2012).
- 2) Reaksi seluler ditandai dengan adanya sel neutrofil dan monosit yang muncul di area inflamasi. Neutrofil berperan untuk membunuh bakteri dan mendesinfeksi luka dari kotoran asing. Pada saat sel imun mensekresi sitokin pro-inflamasi, sel inflamasi khususnya neutrofil menghasilkan sejumlah besar *reactive oxygen species* (ROS) yang dibutuhkan untuk melindungi tubuh dari infeksi. Namun, apabila ROS yang dihasilkan terlalu banyak, maka dapat merusak jaringan sekitarnya secara bersamaan. Makrofag membantu dalam proses fagositosis dan pembersihan jaringan mati serta pembersihan toksin akibat jaringan yang terbakar (Tiwari, 2012). Makrofag juga mensekresi *platelet-derived growth factor* (PDGF) dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF) yang mengawali pembentukan jaringan granulasi dan dengan demikian memulai transisi menuju fase proliferasi dan regenerasi jaringan (Sinno dan Prakash, 2013).

b. Fase Proliferasi:

Fase ini terjadi setelah 3-21 hari setelah trauma yang terdiri dari tiga proses utama yaitu neoangiogenesis yang merupakan pertumbuhan pembuluh darah baru menggantikan pembuluh darah lama yang rusak akibat *injury*. Yang kedua adalah fibroblas yang memproduksi matriks ekstraseluler yang akan mengisi kavitas luka dan menyediakan tempat untuk migrasi keratinosit. Proses terakhir adalah re-epitelisasi, yakni pergerakan sel basal pada epitelium ke daerah *injury* dan menutupi daerah luka (Velnar, 2009). Neoangiogenesis telah dikaitkan dengan banyak molekul termasuk faktor pertumbuhan fibroblas, VEGF, TGF- β , angiogenin, angiotropin, angiopoietin, TNF- α , dan trombospondin. Pembuluh darah yang baru telah menyediakan jalur masuk sel-sel seperti makrofag dan fibroblas ke dalam

luka. Makrofag terus menyediakan faktor pertumbuhan yang merangsang angiogenesis dan fibroplasia lebih lanjut. Sekresi dari PDGF dan TGF- β bersama dengan molekul matriks ekstraselular merangsang diferensiasi fibroblas untuk menghasilkan zat dasar dan kolagen. Fibroblas merupakan sel utama dalam sintesis, pengendapan, dan remodeling matriks ekstraselular yang memberi kekuatan dan substansi pada luka (Sinno dan Prakash, 2013).

c. Fase Maturasi:

Tahap terakhir dalam proses penyembuhan luka adalah fase maturasi. Fase ini ditandai dengan transisi dari jaringan granulasi ke pembentukan parut. Setelah kavitas luka terisi oleh jaringan granulasi dan proses re-epitelisasi usai, fase maturasi segera dimulai. Pada fase maturasi terjadi kontraksi dari luka dan *remodeling* kolagen. Kontraksi luka terjadi akibat aktivitas fibroblas yang berdiferensiasi akibat pengaruh sitokin TGF- β menjadi myofibroblas. Myofibroblas akan mengekspresikan α -SMA (*α -Smooth Muscle Action*) yang akan membuat luka berkontraksi. Pada proses maturasi juga terjadi *remodeling* kolagen, yaitu menurunnya kolagen tipe III yang berperan dalam fase proliferasi, kemudian digantikan dengan kolagen tipe I yang lebih kuat. Hasil akhir dari fase ini berupa jaringan parut yang pucat, tipis, lemas, dan mudah digerakkan dari dasarnya (Velnar, 2009).

2.1.4 Penatalaksanaan Luka Bakar

a. Penanganan Lokal

Kolonisasi bakteri yang disebabkan oleh luka bakar memiliki konsekuensi yang serius, yaitu: terganggunya proses penyembuhan luka, infeksi bakteri yang invasif, dan sepsis yang dapat menyebabkan kematian. Antimikroba topikal mampu mengatasi infeksi yang disebabkan oleh luka bakar, salah satunya adalah agen topikal berbasis perak. Kation perak (Ag^+) bersifat sangat reaktif, sehingga mampu mematikan bakteri dan jamur dalam konsentrasi tertentu. Larutan 0,5% nitrat perak (AgNO_3) telah dijadikan sebagai agen antimikroba untuk kasus luka bakar sejak pertengahan tahun 1960-an. *Silver sulfadiazine* (SSD) adalah krim

larut air yang mengandung 1% perak. Studi menyebutkan bahwa SSD mampu menurunkan angka infeksi dan mortalitas pasien luka bakar derajat II dan III. Namun, pemakaian SSD jangka panjang dapat menyebabkan efek samping yaitu pembentukan eksudat putih-kekuningan pekat dengan batas tidak jelas atau 'pseudo-eskar' di permukaan luka. SSD juga mempunyai durasi kerja yang relatif singkat, sehingga perlu diaplikasikan berkali-kali dalam satu hari. Selain SSD, agen topikal berbasis perak yang saat ini digunakan tersedia dalam bentuk: *nanocrystalline dressing*, *hydrocolloid* atau *hydrofiber silver dressing*, dan *dressing* arang aktif dengan perak (ISBI, 2016).

Salep antibiotik adalah sebuah emulsi air-dalam-minyak yang mengandung antibiotik. Salep memiliki kandungan minyak yang lebih tinggi dibandingkan dengan air sehingga mampu menciptakan suasana lembap untuk luka. Obat ini dipercaya mampu mempercepat proses epitelisasi karena pertumbuhan bakteri pada area luka dihambat. Contohnya adalah *Bacitracin* yang efektif melawan bakteri kokus gram positif, *Polymixin B Sulfate* yang aktif membasmi bakteri gram negatif seperti *Pseudomonas*, dan *Neomycin* yang merupakan salep aminoglikosida topikal untuk melawan bakteri basil gram negatif dan beberapa jenis bakteri gram positif. Untuk mengatasi keterbatasan spektrum dari obat-obat tersebut, saat ini tersedia salep yang megkombinasikan beberapa antibiotik, seperti: *Polysporin* yang merupakan kombinasi dari *Bacitracin* dan *Polymixin B Sulfate*, dan *Neosporin* yang terdiri dari *Neomycin*, *Bacitracin*, dan *Polymixin B Sulfate*. Salep antimikroba diindikasikan untuk pasien luka bakar ringan yang hanya mengenai bagian superfisial dari kulit (luka bakar derajat I dan IIA). Efek samping dari salep ini adalah penyerapan dan komplikasi sistemik, seperti neurotoksisitas, ototoksisitas, dan toksisitas ginjal (ISBI, 2016).

Madu adalah senyawa gula kental dan hiperosmolar yang mengandung sekitar 40% fruktosa, 30% glukosa, 20% air, 5% sukrosa dan campuran komponen lain seperti asam amino, vitamin, mineral, enzim. Madu sebagai obat topikal telah digunakan dalam perawatan luka sejak tahun 2000 sebelum masehi, dan akhir-akhir ini, penggunaan madu sebagai obat luka bakar banyak diminati.

Madu merupakan antimikroba yang terbukti dapat mempercepat penyembuhan luka bakar derajat I dan II (ISBI, 2016).

b. Tindakan Bedah

Luka bakar sirkumferensial derajat III pada ekstremitas dapat menyebabkan pengerutan kerak dan pembengkakan yang terus-menerus, akibatnya dapat terjadi penjepitan yang membahayakan sistem sirkulasi. Tanda dini penjepitan adalah nyeri, kemudian kehilangan daya rasa sampai kebas pada ujung-ujung distal. Keadaan ini harus cepat ditolong dengan membuat irisan memanjang yang membuka eskar (eskarotomi) sampai penjepitan terlepas. Debridemen harus dilakukan sedini mungkin untuk membuang jaringan mati dengan cara eksisi tangensial. Biasanya eksisi ini dilakukan pada hari ke-3 sampai ke-7, atau menunggu keadaan penderita stabil karena eksisi tangensial menyebabkan pendarahan. Eksisi tangensial tidak dilakukan lebih dari 10% luas permukaan tubuh. Sebaiknya pada penderita luka bakar derajat dua dalam dan derajat tiga dilakukan *skin grafting* untuk mencegah terjadinya keloid dan jaringan parut hipertropik. *Skin grafting* dapat dilakukan sebelum hari kesepuluh, yaitu sebelum timbulnya jaringan granulasi. Saat ini telah banyak terdapat material pengganti kulit (*skin substitute*) jika *skin grafting* tidak bisa dilakukan. *Skin substitute* ini antara lain *integra*, *aloderm*, dan *dermagraft*. *Aloderm* adalah dermis manusia yang elemen-elemen epitelnya telah dibuang sehingga bersifat bebas antigen dan berfungsi sebagai kerangka pengganti dermis. *Dermagraft* merupakan hasil pembiakan fibroblas neonatus yang digabung dengan membran silikon, kolagen babi dan jaring (*mesh*) nilon. Setelah dua minggu, membran silikon dikelupas dan digantikan dengan *split thickness skin graft* (STSG) (Sjamsudihajat & de Jong, 2017).

2.2 Membran Balut Luka

Balut luka (*wound dressing*) saat ini sedang berkembang pesat dan telah mengalami perubahan dalam prinsip penggunaan. Prinsip lama yang menyebutkan bahwa penanganan luka harus dalam keadaan kering, ternyata menghambat penyembuhan luka. Menurut Nofita *et al.* (2017), dalam keadaan kering justru

proliferasi sel dan kolagen akan terhambat, dan *fibrin clot* yang sudah terbentuk dalam proses pergantian balutan akan hancur. Begitu pula dengan luka yang terlalu basah, akan menyebabkan maserasi kulit, yakni perubahan tekstur kulit yang menjadi keriput dan melunak karena terendam air. Luka harus dipertahankan dalam keadaan lembap dan tertutup. Menurut Carville (2012), terdapat 15 kriteria pembalut luka yang ideal, yaitu: mengeluarkan kelebihan eksudat, mempertahankan kelembapan dalam penyembuhan luka, memungkinkan adanya pertukaran gas, mendukung isolasi *thermal* dari luka, menjadi penghalang kuman patogen, mencegah infeksi, tidak meninggalkan serat atau substansi toksis bagi penyembuhan luka, tidak menimbulkan sensitifitas atau reaksi alergi, melindungi luka dari trauma mekanik seperti tekanan, tarikan maupun gesekan, mudah dilepaskan tapi tidak menimbulkan trauma jaringan, mudah diaplikasikan, nyaman digunakan, mengikuti lekukan tubuh, tidak mengganggu fungsi tubuh dan ekonomis. Prinsip *wound dressing* yang saat ini dipakai adalah *moisture balance*, yaitu sebuah metode perawatan luka secara tertutup dan lembap (Dhivya *et al.*, 2015). Luka dengan suasana lembap ini akan mempercepat proses fibrinolisis, angiogenesis, pembentukan *growth factor* dan pembentukan sel aktif (Handayani, 2016).

Membran berasal dari bahasa Latin yaitu *membrana* yang artinya kulit kertas. Menurut KBBI, membran adalah selaput, kulit tipis, atau lembaran berbahan tipis. Dari definisi tersebut, membran disimpulkan sebagai suatu lapisan tipis atau *film* untuk membungkus sesuatu. Membran adalah sebuah inovasi *dressing* hidrofilik yang terbuat dari kasa dan mengandung zat aktif, menggunakan *gelling agent* untuk basisnya, humaktan untuk menjaga kelembapan, serta bahan pengawet (*preservatives*) untuk menghindari kontaminasi mikroba yang disebabkan oleh tingginya kadar air. Berikut adalah penjelasan dari setiap komponen pembentuk membran:

a. Basis gel (*gelling agent*)

Gelling agent merupakan komponen polimer dengan berat molekul tinggi yang akan memberikan sifat kental yang diinginkan, biasanya digunakan untuk menstabilkan berbagai macam sediaan obat dan sediaan kosmetik. Contoh *gelling*

agent antara lain: Na-CMC, asam alginat, sodium alginat, kalsium alginat, HPMC, pektin, dan gelatin. Dalam penelitian ini digunakan hidroksipropilmetilselulosa (HPMC) sebagai basis. Keuntungan HPMC dibandingkan dengan *gelling agent* yang lain adalah HPMC dapat memberikan stabilitas kekentalan yang baik di suhu ruang pada jangka waktu yang lama. Selain itu, HPMC merupakan bahan yang tidak beracun dan noniritatif (Rowe *et al.*, 2009). HPMC memiliki kestabilan fisik yang paling optimal pada sediaan gel dibandingkan dengan karbopol. HPMC mempunyai resistensi yang baik terhadap serangan mikroba dan penggunaan HPMC dalam sediaan hidrofilik memiliki kelebihan yaitu menghasilkan daya sebar pada kulit yang baik, efeknya mendinginkan, tidak menyumbat pori-pori kulit, dan mudah dicuci dengan air (Nursiah *et al.*, 2011). HPMC akan menghasilkan gel yang jernih dan tidak berbau. HPMC larut dalam air dingin, etanol 96% dan propilenglikol (Ningsih *et al.*, 2016).

b. Humaktan (penahan kelembapan)

Humaktan atau pelembap ditambahkan dalam sediaan membran dimaksudkan untuk meningkatkan hidrasi kulit. Hidrasi pada kulit menyebabkan jaringan menjadi lunak, tidak berkeriput sehingga penetrasi zat diharapkan akan lebih efektif. Contoh humaktan adalah: gliserol/gliserin, propilenglikol, dan sorbitol. Humaktan yang dipakai dalam penelitian ini adalah propilenglikol. Kelebihan propilenglikol adalah cairannya jernih tidak berwarna dan tidak lengket. Kelarutan propilenglikol dapat bercampur dengan aseton, kloroform dan etanol 96% (Saputra, 2012).

c. Pengawet (*preservatives*)

Pengawet merupakan bahan tambahan yang digunakan dalam sediaan kosmetik yang berfungsi menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur yang dapat mengakibatkan kosmetik rusak. Antimikroba yang digunakan dalam pembuatan membran ini adalah dua jenis paraben, yaitu metil paraben dan propil paraben. Paraben memiliki ciri berbentuk serbuk kristal putih dan tidak berbau, larut dalam etanol, eter dan propilenglikol namun sedikit larut pada air, dan tidak larut dalam minyak. Paraben efektif pada pH 4-8 dan digunakan pada kadar 0,02-0,3%.

Berdasarkan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No: HK.03.1.23.08.11.07517 Tahun 2011 tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetik yaitu kadar metil paraben yang lebih dari 0,4% dapat mengakibatkan iritasi kulit dan reaksi alergi.

d. Aquades

Aquades merupakan pelarut yang memiliki ciri jernih, tidak berwarna dan tidak berasa (Rowe *et al.*, 2009).

2.3 Edamame

Kedelai sayur (*Glycine max* L. Merrill), dikenal dengan sebutan *edamame* di Jepang dan *mau dou* di Cina, merupakan salah satu jenis kacang-kacangan yang termasuk dalam kategori tanaman sayuran (*green soybean vegetable*). Di Jepang, negara asal kedelai ini, edamame termasuk tanaman tropis dan dijadikan sebagai sayuran serta makanan kesehatan. Saat ini, edamame merupakan salah satu komoditas unggulan Kabupaten Jember yang telah menembus pasar internasional (Firmansyah dan Dhuha, 2014).

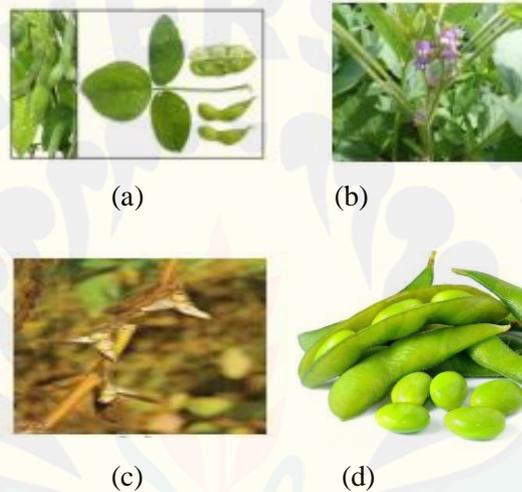
2.3.1 Taksonomi

Menurut *United States Departement of Agriculture* (2013), kedudukan taksonomi edamame adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Fabales
Famili	: Fabaceae
Genus	: Glycine
Spesies	: <i>Glycine max</i> (L. Merrill)

2.3.2 Morfologi

Edamame memiliki tinggi yang beragam, mulai dari 0,2 sampai 2 meter. Tanaman edamame memiliki polong, batang dan daun yang ditutupi oleh rambut-rambut halus berwarna coklat kehitaman. Buah tanaman edamame berupa polong yang berambut dengan panjang polong 3-8 cm, dan biasanya tiap polong berisi dua atau tiga biji. Biji edamame berdiameter 5-11 mm (Kanchana *et al.*, 2015). Morfologi tanaman edamame dapat dilihat pada Gambar 2.4



(a) Daun; (b) Bunga; (c) dan (d) Biji Edamame

Gambar 2.4 Morfologi edamame (Sumber: Kanchana *et al.*, 2015)

2.3.3 Kandungan Edamame

a. Protein

Edamame mengandung 35-40% protein. 90% protein tersebut terdiri atas dua globulin, yakni 11S glisinin dan 7S β -konglisinin. Protein pada edamame mengandung semua jenis asam amino seperti: isoleusin, leusin, lisin, metionin, sistin, fenilalanin, tirosin, treonin, triptofan, valin, yang penting bagi tubuh (Kanchana *et al.*, 2015).

b. Karbohidrat

Edamame mengandung 35% karbohidrat. Sebagian besar karbohidrat yang terkandung dalam edamame adalah polisakarida non-ragi seperti selulosa, hemiselulosa, dan pektin. Selain itu, edamame juga mengandung disakarida

dan sukrosa (antara 2,5-8,2%), oligosakarida seperti: stakiosa (4%) dan rafinosa (1,1%) (Kanchana *et al.*, 2015).

c. Vitamin dan Mineral

Edamame kaya kandungan kalsium, zat besi, vitamin A, B1, dan C. Selain kandungan gizi tersebut, disebutkan pula edamame kaya kandungan kalium, asam askorbik, serta vitamin E (Widati dan Hidayat, 2018). Edamame mengandung tokoferol yang bermanfaat sebagai antioksidan, serta kaya akan kandungan Na, K, P, Ca, Mg, Zn, dan Fe (Kanchana *et al.*, 2015).

d. Isoflavon

Isoflavon termasuk dalam golongan flavonoid yang merupakan senyawa polifenolik. Isoflavon utama pada edamame adalah genistein yang memiliki efek antiinflamasi, antibakteri dan antioksidan (Yang *et al.*, 2012). Kandungan genistein dalam biji edamame yaitu sebesar 19,79 $\mu\text{g/g}$ dari total isoflavon sebesar 92,81 $\mu\text{g/g}$ (Mebrahtu *et al.*, 2004). Selain itu, kandungan genistein juga berperan dalam proses sintesis kolagen, yaitu dengan mencegah terjadinya *abnormal scarring* yang disebabkan oleh ketidakseimbangan antara sintesis dan degradasi matriks ekstraseluler sehingga tidak timbul keloid (Irrera *et al.*, 2017).

2.3.4 Manfaat Edamame

Edamame mengandung vitamin A, C, dan E yang penting dalam proses penyembuhan luka. Vitamin A berperan dalam meredakan inflamasi yang terjadi dengan cara meningkatkan sintesis kolagen. Vitamin C berfungsi dalam hal kekuatan dan kestabilan kolagen. Selain itu, vitamin C juga meningkatkan fungsi neutrofil dan mempunyai efek antioksidan (Chow dan Barbul, 2014). Vitamin E merupakan antioksidan dan antiinflamasi yang bermanfaat untuk mempercepat proses penyembuhan luka (Tanaydin *et al.*, 2016).

Selain vitamin, kandungan edamame lainnya yang berperan dalam penyembuhan luka adalah isoflavon. Dalam penelitian Riyanto *et al.* (2015) disimpulkan bahwa isoflavon memiliki efek anti-inflamasi dan antimikroba, dibuktikan dengan adanya perbaikan derajat keparahan akne vulgaris saat diberi

terapi suplemen isoflavon kedelai peroral pada pasien akne vulgaris perempuan yang mendapat terapi krim tretinoin 0,025%. Isoflavon pada biji edamame juga merupakan antioksidan alami.

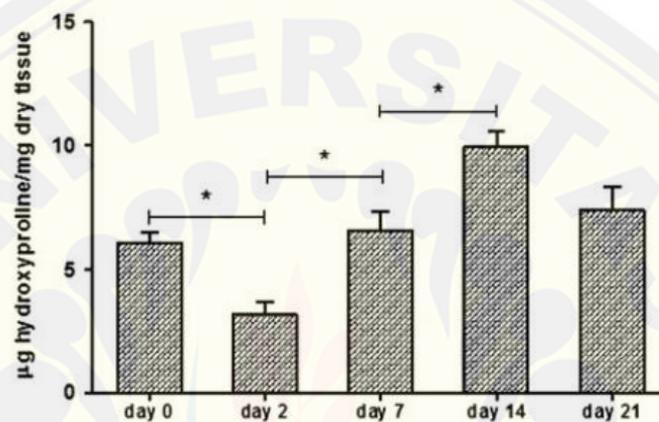
2.3.5 Ekstrak Edamame

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Mukhriani, 2014). Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi. Maserasi adalah suatu proses ekstraksi menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan. Keuntungan utama metode maserasi yaitu prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana, murah, dan tidak dipanaskan sehingga bahan alam yang terkandung dalam kedelai tidak terurai (Puspitasari dan Prayogo, 2017). Namun metode ini memiliki kekurangan yaitu membutuhkan pelarut yang banyak sehingga membutuhkan waktu yang lama juga. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Yatsu *et al.* (2016), dari berbagai pelarut yang diteliti untuk ekstraksi biji edamame (metanol, etanol, aseton, etil asetat, dan kloroform), etanol merupakan pilihan terbaik karena toksisitasnya rendah, harga relatif lebih murah, dan mampu melarutkan zat aktif dalam edamame dengan baik. Proses ekstraksi dengan pelarut etanol 96% menghasilkan jumlah kandungan isoflavon tertinggi pada ekstrak biji edamame (Yatsu *et al.*, 2016).

2.4 Hidroksiprolin

Hidroksiprolin merupakan salah satu asam amino utama kolagen. Hidroksiprolin berasal dari residu prolin yang mengalami proses hidroksilasi oleh enzim *prolyl hydroxylase* dengan bantuan vitamin C. Sintesis asam amino hidroksiprolin ini terbatas hanya ada pada kolagen saja, yaitu pada posisi Y dalam tripeptida berulang Gli-X-Y. Oleh karena sintesis yang terbatas, kadar hidroksiprolin dalam jaringan digunakan sebagai indeks parameter kolagen dalam kulit. Semakin tinggi kadar hidroksiprolin dapat diindikasikan bahwa terjadi peningkatan sintesis kolagen yang berkorelasi dalam proses penyembuhan luka (Rismana *et al.*, 2013). Selain itu, pemeriksaan hidroksiprolin juga berguna untuk

mengontrol banyaknya kolagen dalam tubuh pada kondisi penyakit seperti: invasi tumor dan metastasis, reumatoid arthritis, diabetes melitus, dan distrofi otot (Reddy dan Enwemeka, 1996). Pada proses penyembuhan luka bakar, hidroksiprolin dibentuk pada saat fase proliferasi, sehingga di hari ke-4 setelah terjadinya luka kadar hidroksiprolin akan meningkat sampai mencapai kadar puncak pada hari ke-14, lalu akan turun kembali pada kadar normalnya (Caetano *et al.*, 2016).



Gambar 2.5. Grafik kadar hidroksiprolin (Sumber: Caetano *et al.*, 2016)

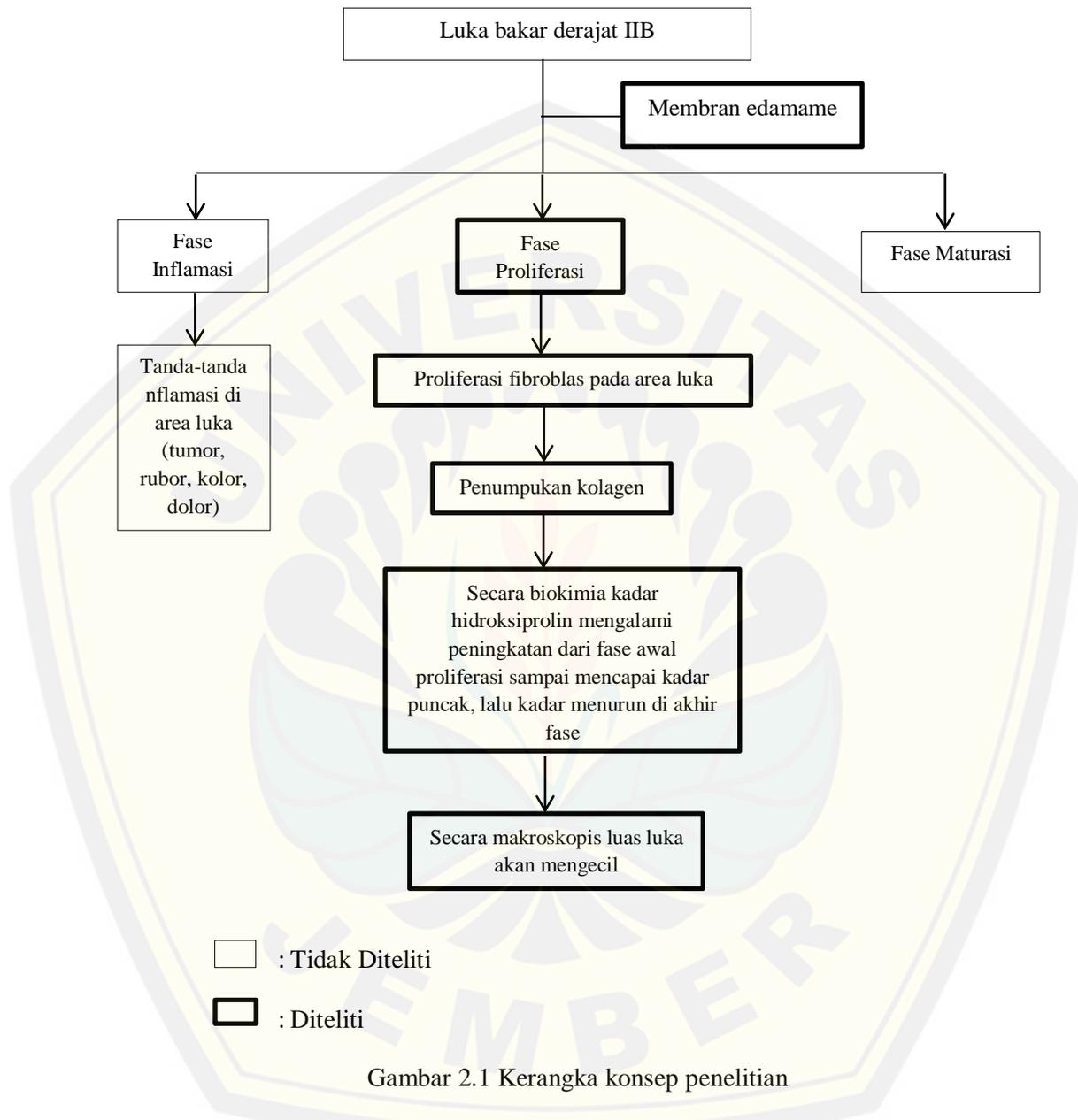
Pengukuran kadar hidroksiprolin dilakukan dengan cara mengambil berbagai jaringan, plasma dan urin. Terdapat beberapa metode yang biasanya dilakukan untuk mengetahui kadar hidroksiprolin dalam sampel, seperti metode *high performance liquid chromatography* (HPLC), kromatografi gas, metode biokimia dengan spektrofotometer (kolorimetri) dan ELISA (Rajesh *et al.*, 2014). Metode biokimia dengan spektrofotometer merupakan metode yang pengerjaannya mudah dan sederhana, cukup sensitif dan tidak membutuhkan waktu yang lama. Selain itu metode ini juga mempunyai kepekaan analisis yang cukup tinggi dan pengerjaannya yang relatif murah. Metode biokimia ini terdiri dari tiga langkah, yaitu (a) hidrolisis jaringan dengan asam dan basa kuat untuk membebaskan asam amino hidroksiprolin dari kesatuan protein, (b) oksidasi dengan *Chloramin T* dan (c) pemunculan kromosfor dengan reagen *Ehrlich* (Reddy dan Enwemeka, 1996). Reagen Ehrlich akan memberikan warna merah sehingga dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 557 nm (Gupta *et al.*, 2016). Keuntungan

dari metode ini adalah pengerjaannya sangat spesifik dan sensitif walaupun sampel jaringannya sangat kecil. Jumlah hidroksiprolin dalam sampel dihitung terhadap kurva standar hidroksiprolin (Rismana *et al*, 2013).



2.5 Kerangka Konsep Penelitian

Kerangka konseptual penelitian dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.1 Kerangka konsep penelitian

Proses penyembuhan luka bakar terdiri dari tiga fase, yakni fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi. Pada penyembuhan fisiologis tikus yang diinduksi luka bakar derajat IIB, fase inflamasi terjadi pada hari ke 1-3 setelah induksi luka. Fase proliferasi adalah fase yang menjadi fokus peneliti dalam pengamatan penyembuhan luka. Fase proliferasi dimulai pada hari ke-4 setelah terjadi luka dan ditandai dengan fibroblas yang mulai memasuki area luka.

Fibroblas akan berproliferasi dan memproduksi kolagen, yang semakin hari akan semakin banyak jumlahnya. Penumpukan kolagen yang disertai dengan peningkatan kadar hidroksiprolin terjadi pada fase ini. Fase proliferasi berakhir ±hari ke-21 dan dilanjutkan dengan fase maturasi atau fase *remodelling* kolagen. Pada penelitian ini, perawatan luka dilakukan dengan menggunakan membran edamame yang memiliki sifat fitokimia seperti antimikroba, anti-inflamasi dan antioksidan. Membran edamame akan menyebabkan fase inflamasi berlangsung cepat, sehingga akan cepat pula fase proliferasi dan maturasi tercapai. Percepatan proses penyembuhan luka dievaluasi dengan cara mengamati kadar hidroksiprolin dan luas luka pada tiga hari yang berbeda dengan interval waktu satu minggu, yaitu hari ke-4, 10, dan 16. Peningkatan kadar hidroksiprolin dapat diamati secara makroskopis sebagai penutupan luka bakar.

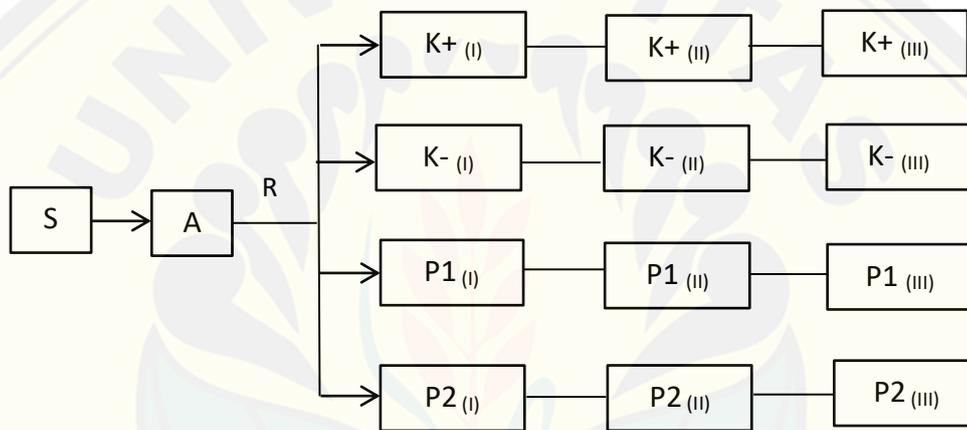
2.6 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah membran edamame dapat mempengaruhi kadar hidroksiprolin dalam proses penyembuhan luka bakar derajat IIB pada serial waktu hari ke-4, 10, dan 16.

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experimental design* dengan metode *posttest-only control group*. Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian *posttest-only control group*. Pengukuran hanya dilakukan pada *posttest*, yakni setelah mendapat perlakuan berupa membran edamame. Secara sistematis rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

- S : Sampel yang didapat dari rumus *Federer*
- A : Adaptasi tikus selama 7 hari.
- R : Randomisasi sampel dengan simple random sampling.
- K₊(I) : Kelompok kontrol dengan *Silver Sulfadiazine* yang diterminasi pada hari ke-4
- K₊(II) : Kelompok kontrol dengan *Silver Sulfadiazine* yang diterminasi pada hari ke-10
- K₊(III) : Kelompok kontrol dengan *Silver Sulfadiazine* yang diterminasi pada hari ke-16
- K₋(I) :Kelompok perlakuan dengan membran ekstrak edamame 0% yang diterminasi pada hari ke-4
- K₋(II) :Kelompok perlakuan dengan membran ekstrak edamame 0% yang diterminasi pada hari ke-10
- K₋(III) :Kelompok perlakuan dengan membran ekstrak edamame 0% yang diterminasi pada hari ke-16

- P1_(i) :Kelompok perlakuan dengan membran ekstrak edamame 40% yang diterminasi pada hari ke-4
- P1_(ii) :Kelompok perlakuan dengan membran ekstrak edamame 40% yang diterminasi pada hari ke-10
- P1_(iii) :Kelompok perlakuan dengan membran ekstrak edamame 40% yang diterminasi pada hari ke-16
- P2_(i) :Kelompok perlakuan dengan membran ekstrak edamame 60% yang diterminasi pada hari ke-4
- P2_(ii) :Kelompok perlakuan dengan membran ekstrak edamame 60% yang diterminasi pada hari ke-10
- P2_(iii) :Kelompok perlakuan dengan membran ekstrak edamame 60% yang diterminasi pada hari ke-16

3.2 Hewan Coba Penelitian

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*). Sampel dipilih dengan teknik acak sederhana (*simple random sampling*), yaitu pengambilan anggota sampel secara acak karena hewan coba pada penelitian bersifat homogen. Anggota sampel dipilih dengan metode undian sederhana menggunakan *software* SPSS.

3.2.1 Kriteria Hewan Coba

Kriteria inklusi dari penelitian ini yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) jantan, usia tikus 3-4 bulan, berat badan antara 250-300 gram, kulit normal, dan sehat (dibuktikan dengan tikus yang bergerak aktif). Kriteria eksklusi penelitian ini yaitu tikus yang sakit yang ditandai oleh pergerakan tidak aktif dan tidak mau makan, serta kulit yang infeksi (dibuktikan dengan adanya pus).

3.2.2 Jumlah Replikasi

Banyaknya anggota tiap kelompok pada penelitian ditentukan menggunakan rumus Federer, sebagai berikut:

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

$$(r - 1) (12 - 1) \geq 15$$

$$11 (r - 1) \geq 15$$

$$(r - 1) \geq \frac{15}{11}$$

$$(r - 1) \geq 1,36$$

$$r \geq 2,36 \sim 3$$

Keterangan: r = jumlah replikasi, t = jumlah intervensi

Berdasarkan rumus tersebut, penulis mengambil jumlah replikasi sebanyak tiga ekor perkelompok per hari pengamatan. Nilai 12 diambil dari 4 kelompok pada pengamatan hari ke-4, 4 kelompok pada pengamatan hari ke-10, dan 4 kelompok pada pengamatan hari ke-16, sehingga tikus yang dapat digunakan sebanyak 36 ekor. Kemudian untuk mengantisipasi adanya *drop out* saat penelitian berlangsung maka ditambahkan 10% ke dalam setiap kelompok perlakuan. Jadi, total tikus (+ faktor koreksi) yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 48 ekor. Kriteria *drop out* dalam penelitian ini adalah: tikus yang mati saat perlakuan dan terinfeksi (dibuktikan dengan adanya pus pada kulit).

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di beberapa tempat. Determinasi tanaman dilaksanakan oleh PT Mitratani Dua Tujuh, Kabupaten Jember. Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba dilakukan di Rumah Hewan Fakultas Kedokteran UNEJ. Pembuatan ekstrak edamame dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan UNEJ, pembuatan membran edamame dilakukan di Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi UNEJ, dan pengukuran kadar hidroksiprolin dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran UNEJ. Pelaksanaan penelitian ini dimulai pada bulan Januari hingga bulan Februari 2020.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang terdapat dalam penelitian ini adalah konsentrasi membran edamame.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar hidroksprolin dan persentase penyusutan luas luka pada kulit yang diukur setelah pemberian membran edamame.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Jenis kelamin, usia, berat badan dan pemeliharaan hewan coba
- b. Pembuatan membran edamame (*Glycine max* L. Merrill)
- c. Pembuatan luka bakar derajat IIB
- d. Perawatan luka bakar dan pencegahan infeksi
- e. Lama perlakuan

3.5 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Definisi operasional

Variabel	Definisi Operasional	Hasil Ukur	Skala Ukur
Membran Edamame (Variabel Bebas)	Sediaan hidrofilik yang mengandung bahan aktif yaitu ekstrak edamame (<i>Glycine max</i> L. Merrill) lalu diserapkan pada kasa steril. Edamame didapat dari PT. Mitra Tani Dua Tujuh Jember dengan varietas MT-116. Ekstrak edamame dibuat dengan metode maserasi dan dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10. Konsentrasi ekstrak edamame yang digunakan sebagai membran sebesar 0%, 40% dan 60%. Membran edamame dibentuk dari HPMC, propilenglikol, nipagin dan nipasol, dan DMSO 5%	Membran dengan konsentrasi ekstrak edamame 0, 40, 60 (%)	Rasio

Hidroksiprolin (Variabel Terikat)	Struktur utama kolagen yang berasal dari asam amino prolin yang terhidroksilasi oleh enzim <i>prolylhydroxylase</i> dengan bantuan vitamin C. Kadar hidroksiprolin kulit diukur serapannya pada panjang gelombang 557 nm dengan spektrofotometer (Gupta <i>et al.</i> , 2016). Jumlah hidroksiprolin dalam sampel dihitung terhadap kurva standar hidroksiprolin (Rismana <i>et al.</i> , 2013).	Kadar hidroksiprolin ($\mu\text{g}/100\text{mg}$ jaringan kulit)	Rasio
Persentase penyusutan luas luka	Luas luka adalah luka yang mengalami penyusutan yang disebabkan karena adanya peningkatan kadar hidroksiprolin yang menyebabkan luka lebih kecil dibandingkan dengan luka awal. Metode pengukuran luas luka bakar yaitu dengan menempelkan luka pada kertas kalkir dan dihitung dengan kertas millimeter (Sakinah, 2016). Luas luka hari ke-16 dimasukkan ke dalam rumus persentase penyusutan luka, yaitu luas luka awal dikurangi luas luka hari ke-16, dibagi dengan luas luka awal dan dikali 100%.	Persentase penyusutan luas luka (%)	Rasio

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

- Alat untuk pemeliharaan tikus adalah bak plastik, penutup kawat, tempat pakan tikus, dan botol minum.
- Alat untuk pembuatan membran edamame adalah oven, ayakan, blender, timbangan, toples, erlenmeyer, corong, kertas saring, *rotary evaporator*, pengaduk, *beaker glass*.
- Alat untuk pembuatan luka bakar adalah logam aluminium, stopwatch, alat ukur elektrik, dan oven.
- Alat untuk mengambil jaringan kulit adalah gunting, pinset, spuit, pot organ, jarum.

- e. Alat untuk menghitung luas luka adalah kertas kalkir dan kertas milimeter *block*.
- f. Alat untuk mengukur kadar hidrosiprolin adalah timbangan, *beaker glass*, pipet, *magnetic stirrer*, *vortex*, oven, stopwatch, inkubator, *centrifuge*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, kuvet, spektrofotometer.

3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Bahan untuk pemeliharaan tikus adalah makanan tikus, air tawar, dan serbuk kayu.
- b. Bahan untuk pembuatan ekstrak etanol biji edamame adalah biji edamame, DMSO, dan pelarut etanol 96%.
- c. Bahan untuk pembuatan membran adalah gliserin, gelatin, aquades, nipagin, nipasol, kassa, dan ekstrak etanol biji edamame.
- d. Bahan untuk pembuatan luka bakar adalah ketamin, xylazin, tramadol alkohol, normal saline, kassa.
- e. Bahan untuk perawatan luka bakar adalah normal saline, krim *Silver Sulfadiazine*, dan membran edamame.
- f. Bahan untuk mengambil jaringan kulit adalah eter.
- g. Bahan untuk mengukur kadar hidrosiprolin adalah aquades, HCl, Chloramin T, buffer sitrat, HClO₄ dan reagen ehrlich.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Uji Kelayakan Etik

Tikus putih sebagai subjek yang digunakan pada penelitian ini harus mendapat sertifikat kelayakan etik, sehingga perlu diajukan ke komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Prosedur ini dilakukan dengan tujuan agar dapat menjamin keamanan bagi peneliti maupun hewan coba, melindungi hewan coba, dan memperjelas tujuan dan kewajiban peneliti.

3.7.2 Pemilihan Sampel Tikus

Hewan coba berupa tikus (*Rattus Norvegicus*) galur *Wistar* jantan yang sehat dengan usia 3-4 bulan dan berat badan antara 250-300 gram. Tikus yang dipilih harus memiliki tubuh serta kulit yang sehat dan normal.

3.7.3 Pembagian Kelompok dan Pemeliharaan Hewan Coba

Tikus diadaptasi pada kondisi laboratorium selama 7 hari sebelum diberi perlakuan. Setiap tikus dipelihara dalam 1 kandang yang berbeda dengan suhu kamar atau 25 °C dan 12 jam siklus siang-malam. Tikus diberi pakan standar dan diberikan minum secara *ad libitum*. Pembagian kelompok tikus dapat dilihat pada Lampiran 3.4.

3.7.4 Pembuatan Ekstrak Edamame

a. Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan untuk mengetahui identitas bahan tanaman yang digunakan pada penelitian, yaitu biji edamame. Varietas edamame yang digunakan adalah edamame MT-116.

b. Pembuatan Simplisia Biji Edamame

Biji edamame dicuci dengan air bersih mengalir kemudian ditiriskan lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 40-50 °C sampai kering. Biji edamame yang sudah kering dibuat dalam bentuk serbuk dengan cara diblender, diayak dengan menggunakan ayakan *mesh* 40 (Puspitasari dan Prayogo, 2018).

c. Proses Ekstraksi dengan Metode Maserasi

Serbuk simplisia biji edamame dimasukkan ke dalam toples, lalu ditambahkan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10 dan ditutup rapat agar terhindar dari cahaya matahari langsung (Yatsu *et al.*, 2016). Proses perendaman selama 3 hari sambil diaduk setiap 24 jam sekali hingga homogen. Setelah 3 hari, campuran simplisia dan etanol disaring menggunakan kertas saring dan hasil fitratnya dimasukkan ke dalam *evaporator*. Selanjutnya filtrat dimasukkan ke dalam *evaporator drying*

oven vacuum pada suhu 60 °C selama 2 jam hingga menjadi ekstrak etanol biji edamame yang kental.

3.7.5 Pembuatan Membran Edamame

Tabel 3.2 Formula basis gel untuk membran edamame

Komposisi	Fungsi	K-	P1	P2
Ekstrak kental biji edamame (g)	Bahan aktif	0	40	60
HPMC (g)	Basis gel	2	2	2
Metilparaben (g)	Pengawet	0,18	0,18	0,18
Propilenglikol (mL)	Humektan	15	15	15
Propilparaben (g)	Pengawet	0,15	0,15	0,15
Aquades + DMSO 5% ad (mL)	Pelarut	100	100	100

Sumber: Sujono *et al.*, 2014.

Gel diformulasikan sesuai komposisi pada Tabel 3.2, ditimbang masing-masing bahan. HPMC didispersikan ke dalam 50 ml aquades yang mengandung 5% DMSO, dibiarkan hingga mengembang dan diaduk sampai sedikit liat. Kemudian campuran tersebut didiamkan selama 24 jam pada suhu ruang dan ditutup kertas *aluminium foil*.

Metil paraben dan propil paraben dicampur ke dalam propilenglikol 15 ml. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam campuran HPMC gel dan diaduk sampai homogen. Tambahkan ekstrak kental biji edamame sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan, lalu tambahkan aquades yang mengandung DMSO 5% kembali sampai menghasilkan 100 gram gel. Lalu dituangkan ke dalam plat kaca yang di dalamnya terdapat kassa steril dengan ukuran 2,5 cm x 2,5 cm dan ketebalan ± 1 mm. Campuran yang melingkupi seluruh permukaan kassa tersebut didinginkan ke dalam lemari pendingin dalam suhu 4 °C (Sujono *et al.*, 2014).

3.7.6 Persiapan Bahan Baku dan Peraksi

a. Pembuatan reagen

1) Pembuatan larutan HCl 6 N

Larutan HCl 37% (12 N) dipipet sebanyak 2,5 mL, lalu tuang ke dalam labu ukur 5 mL. Aquades ditambahkan ke dalam larutan sampai tanda batas dan homogenkan dengan cara dikocok (Afifah, 2016).

2) Pembuatan larutan *Chloramin T*

Serbuk chloramin sebanyak 350 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL. Aquades ditambahkan sampai tanda batas dan dikocok dengan *magnetic stirrer* sampai homogen (Afifah, 2016).

3) Pembuatan buffer sitrat pH 6

Buffer sitrat terbuat dari 0,1 M larutan natrium sitrat dan 0,1 M larutan asam sitrat. Serbuk asam sitrat sebanyak 420 mg, dimasukkan dalam *beaker glass* 50 mL. Kemudian ditambahkan aquades sampai batas 20 mL dan dihomogenkan dengan cara dikocok. Serbuk natrium sitrat sebanyak 558 mg dimasukkan ke dalam *beaker glass* 50 mL, lalu ditambahkan aquades sampai batas 20 mL dan dikocok sampai homogen. Untuk pembuatan buffer sitrat pH 6 dibutuhkan 1,9 mL larutan asam sitrat dan 8,1 mL larutan natrium sitrat, dicampurkan ke dalam satu *beaker glass* dan dikocok sampai homogen. Kemudian, periksa pH larutan dengan pH meter hingga pH 6 (Wachid dan Setiarso, 2014).

4) Pembuatan larutan 0,4 M HClO₄ 60%

Larutan 0,4 M HClO₄ 60% dipipet sebanyak 0,4 mL kemudian dimasukkan larutan ke dalam labu ukur 10 mL. Aquades ditambahkan sampai tanda batas lalu dikocok hingga homogen.

5) Pembuatan larutan hidroksiprolin standar

Pembuatan larutan induk hidroksiprolin standar yaitu 4 mg/mL, kemudian dilakukan pengenceran (Edwards dan O'Brien, 1980) seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3 Pengenceran larutan hidroksiprolin standar

Tabung	Hidroksiprolin standar (μL)	Aquades (μL)	Konsentrasi hidroksiprolin ($\mu\text{g/mL}$)
1	100 μL dari larutan induk	900	400
2	500 μL dari tabung 1	500	200
3	500 μL dari tabung 2	500	100
4	500 μL dari tabung 3	500	50
5	500 μL dari tabung 4	500	25
6	500 μL dari tabung 5	500	12,5
7	500 μL dari tabung 6	500	6,3
8	-	500	0

3.7.7 Tahap Perlakuan

a. Pembuatan Luka Bakar Derajat IIB

Dua hari sebelum induksi luka bakar, rambut pada bagian punggung tikus diolesi krim obat menghilangkan rambut komersial (VEET™ - Rickitt Benckiser Colombia SA; Cali, Colombia) dan dicukur dengan gunting dengan ukuran 4 x 4 cm (Cai *et al.*, 2014). Kulit punggung tikus disinfeksi dengan isopropil alkohol 70% dan dibiarkan sampai mengering. Anestesi dilakukan dengan memberikan injeksi *ketamine* 75 mg/kgBB dan *xylazine* 15 mg/kgBB secara intraperitoneal. Seluruh prosedur dilakukan dalam kondisi yang steril. Tikus yang telah mengalami sedasi dibaringkan dalam papan *sterofoam*. Kulit punggung tikus yang telah dicukur rambutnya diregangkan agar sejajar, lalu induksi luka bakar dilakukan dengan menempelkan pelat aluminium berukuran 2 x 2 cm. Pelat aluminium dipanaskan di dalam *oven* dengan suhu 70 °C, setelah mencapai suhu tersebut pelat didiamkan dulu selama lima detik sebelum ditempelkan pada kulit. Pelat aluminium ditempelkan pada kulit selama 10 detik untuk membuat luka bakar derajat IIB. Setelah induksi luka bakar satu tikus selesai, pelat aluminium didiamkan selama tiga menit sebelum dimasukkan ke dalam *oven* lagi untuk induksi luka bakar selanjutnya (Venter *et al.*, 2014). Luka dikonfirmasi sebagai

luka bakar derajat IIB dengan ciri luka berwarna putih, terdapat bula, bintik-bintik merah, dan kering (Haines dan Fairbrother, 2015).

b. Perawatan Luka Bakar

Tikus yang telah diberi luka bakar derajat IIB dibersihkan dengan *normal saline*. Selanjutnya, tikus diberi perawatan luka berdasarkan kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol positif (K_+) luka ditutup dengan *Silver Sulfadiazine* yang dioleskan setiap 2 kali sehari. Kelompok kontrol negatif (K_-) luka ditutup dengan membran berbasis gel tanpa bahan aktif, perlakuan 1 (P_1) diberi membran yang mengandung ekstrak edamame 40%, dan perlakuan 2 (P_2) diberi membran yang mengandung ekstrak edamame 60%. Pemilihan konsentrasi ditetapkan berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Hasanah (2018) yang menyatakan bahwa konsentrasi ekstrak edamame yang efektif dalam mempercepat penyembuhan luka bakar derajat IIB sebesar 60%. Selain itu, diharapkan bentuk sediaan membran ini, penyembuhan luka bakar derajat IIB dapat cepat tercapai dengan konsentrasi yang lebih rendah dari konsentrasi efektif penelitian sebelumnya, yaitu 40%. Semua membran ditutup dengan hipafix. Membran diganti setiap tiga hari sekali.

3.7.8 Pengambilan dan Pengolahan Jaringan Kulit

Hewan coba diterminasi dengan cara dislokasi servikal. Pemilihan hari terminasi mempertimbangkan proses fisiologis penyembuhan luka pada kulit tikus yaitu pada fase proliferasi yang dimulai pada hari ke-4 dan berakhir pada hari ke-21 (Tiwari, 2012). Oleh karena itu, terminasi dilakukan sebanyak tiga kali pada fase proliferasi dengan interval waktu satu minggu, yaitu pada hari ke-4, 10, dan 16. Jaringan kulit yang diberi perlakuan diambil sebanyak 300 mg sesuai dengan daerah bekas luka bakar. Sediaan kulit diambil terutama pada tepi luka karena proses penyembuhan luka sebagian besar berawal dari tepi luka. Setelah kulit diambil, kulit diletakkan pada cawan petri dan dikeringkan pada suhu 60°C selama 12 jam. Setelah kulit kering, ditambahkan 3-5 mL 6 N HCl, lalu tutup tabung reaksi dengan *aluminium foil*. Jaringan kulit dihidrolisis pada suhu 130°C selama 4 jam. Kulit yang kering akan larut dalam HCl pada proses hidrolisis. Hasil hidrolisis dibiarkan hingga dingin. Larutan dipindah pada tabung eppendorf

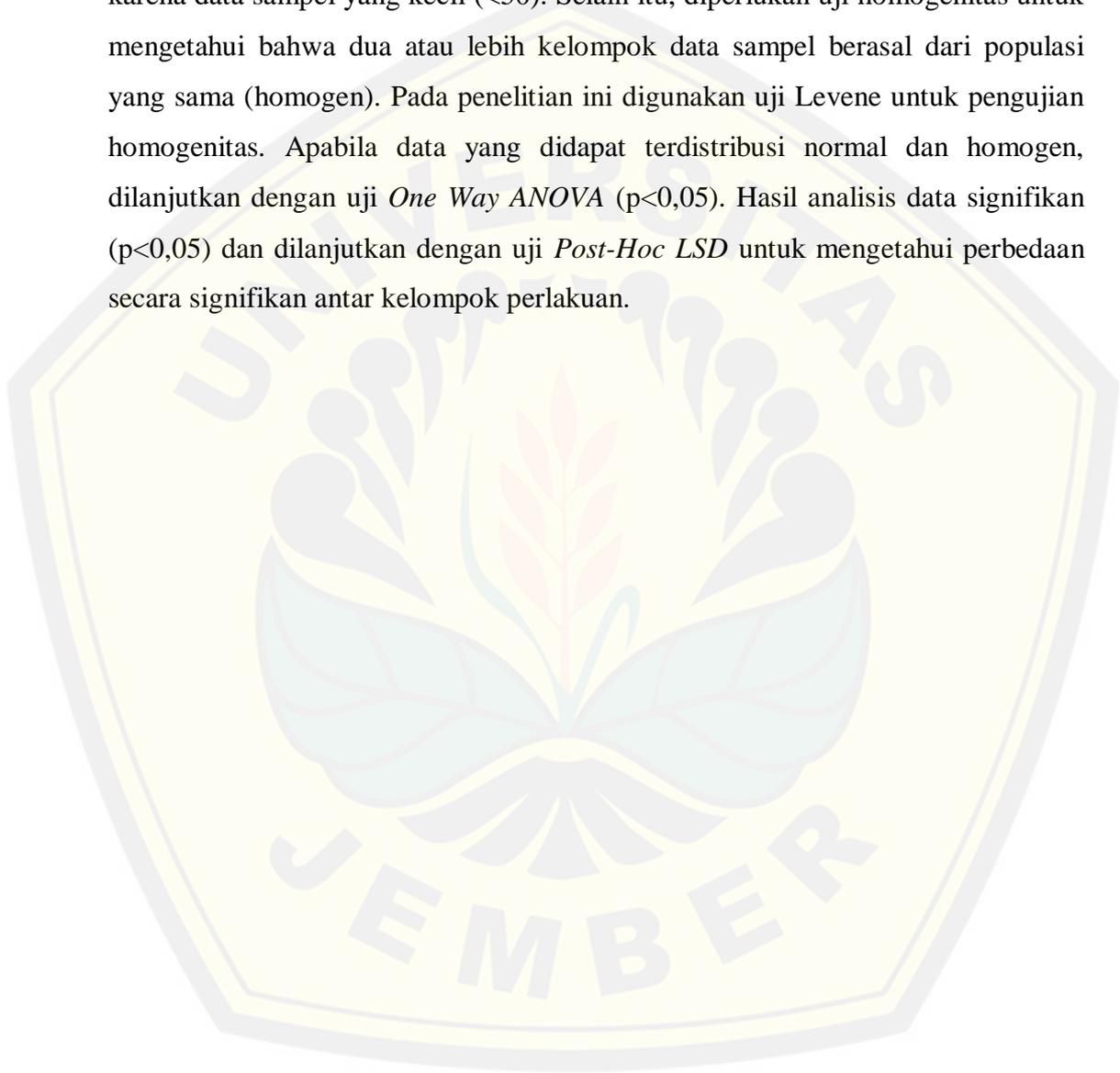
sebanyak 2 mL dan dilakukan pemisahan menggunakan sentrifuge pada 10000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang terbentuk diambil dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi (Gupta *et al.*, 2016).

3.7.9 Pengukuran Kadar Hidroksiprolin

Supernatan yang terbentuk dari proses pengambilan dan pengolahan jaringan kulit dievaporasi selama 30-45 menit pada suhu 60-80°C untuk menghilangkan sisa-sisa HCl yang dapat menghambat reaksi kolorimetri. Kemudian 500 µL larutan yang telah dievaporasi ditambahkan dengan 30µL Chloramin T dan 470 µL buffer sitrat pH 6, dikocok hingga homogen. Hasil campuran diinkubasi selama 20 menit pada suhu ruangan. Reaksi diakhiri dengan penambahan 250 µL larutan 0,4 M HClO₄ dan 250 µL larutan Ehrlich, dikocok hingga homogen. Hasil campuran diinkubasi selama 90 menit pada suhu 60°C. Setelah proses inkubasi akan terbentuk endapan hitam, sehingga perlu dilakukan sentrifuge dengan kecepatan 3000-4000 rpm selama 5 menit. Hasil reaksi dipindahkan ke dalam kuvet. Kadar hidroksiprolin diukur serapannya pada panjang gelombang 557 nm menggunakan spektrofotometer (Gupta *et al.*, 2016). Jumlah hidroksiprolin dalam sampel dihitung terhadap kurva standar hidroksiprolin (Rismana *et al.*, 2013). Pembuatan kurva hidroksiprolin standar dengan konsentrasi 0; 6,3; 12,5; 25; 50; 100; 200; dan 400 µg/mL. 500 µL hidroksiprolin standar diletakkan pada tabung reaksi, ditambahkan 30 µL Chloramin T dan 470 µL buffer sitrat pH 6, dikocok dengan *vortex*. Sampel diinkubasi pada suhu ruang selama 20 menit. Kemudian ditambahkan 250 µL larutan 0,4 M HClO₄ dan 250 µL larutan Ehrlich, kocok dengan *vortex*. Sampel diinkubasi selama 90 menit pada suhu 60°C, dibiarkan dingin pada suhu ruang. Selanjutnya, dilakukan sentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang terbentuk dipindahkan ke dalam kuvet. Sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang 557 nm, dan nilai absorbansi sampel dimasukkan dalam formula kurva standar dan didapatkan nilai akhir hidroksiprolin dalam satuan µg/mL.

3.8 Analisis Data

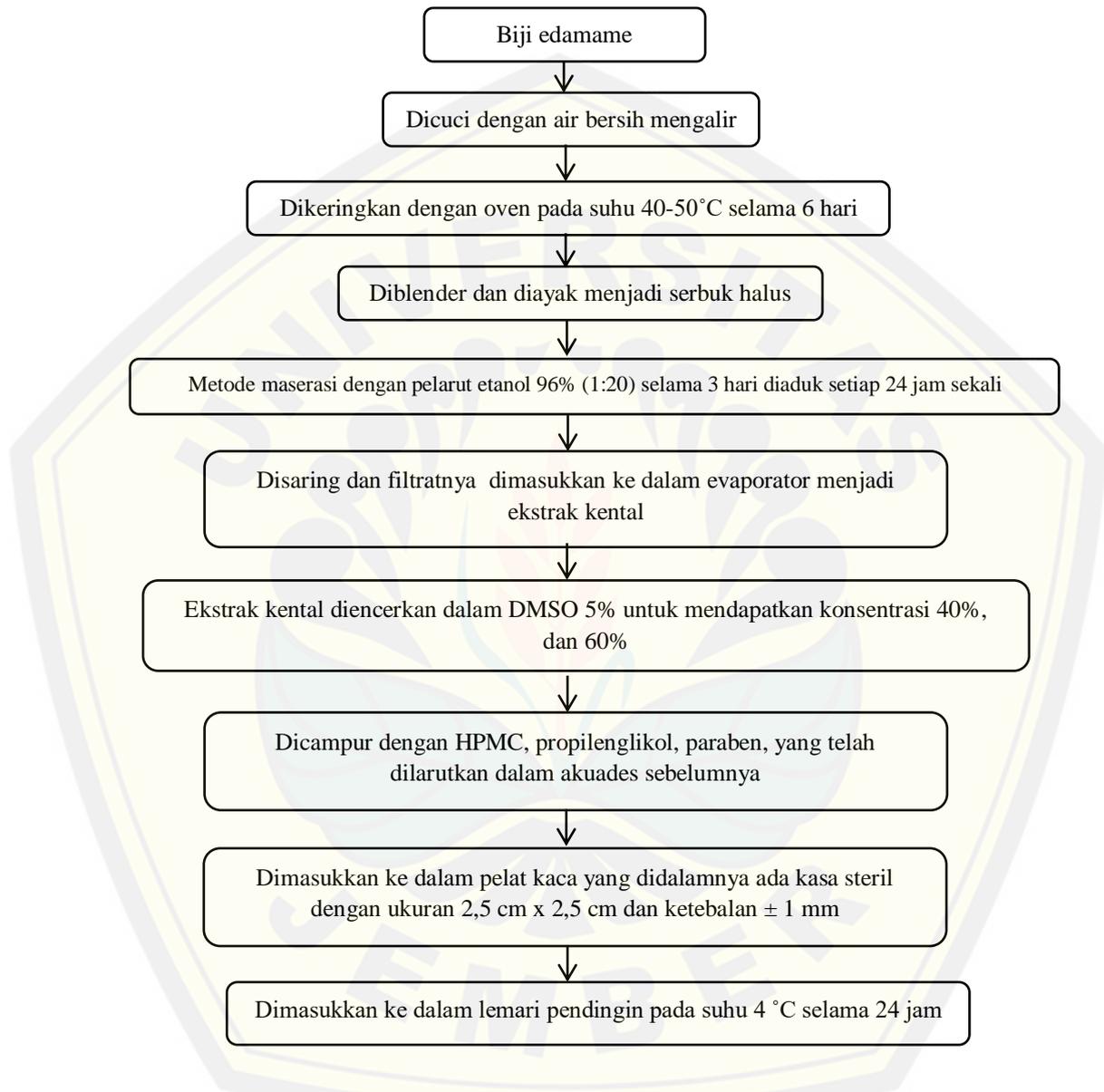
Sebelum peneliti menggunakan teknik statistik parametris dan non-parametris, kenormalan data harus diuji terlebih dahulu. Teknik pengujian normalitas data yang digunakan pada penelitian ini adalah teknik uji Shapiro-Wilk karena data sampel yang kecil (<50). Selain itu, diperlukan uji homogenitas untuk mengetahui bahwa dua atau lebih kelompok data sampel berasal dari populasi yang sama (homogen). Pada penelitian ini digunakan uji Levene untuk pengujian homogenitas. Apabila data yang didapat terdistribusi normal dan homogen, dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* ($p < 0,05$). Hasil analisis data signifikan ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc LSD* untuk mengetahui perbedaan secara signifikan antar kelompok perlakuan.



3.9 Alur Penelitian

3.9.1 Alur Pembuatan Membran Edamame

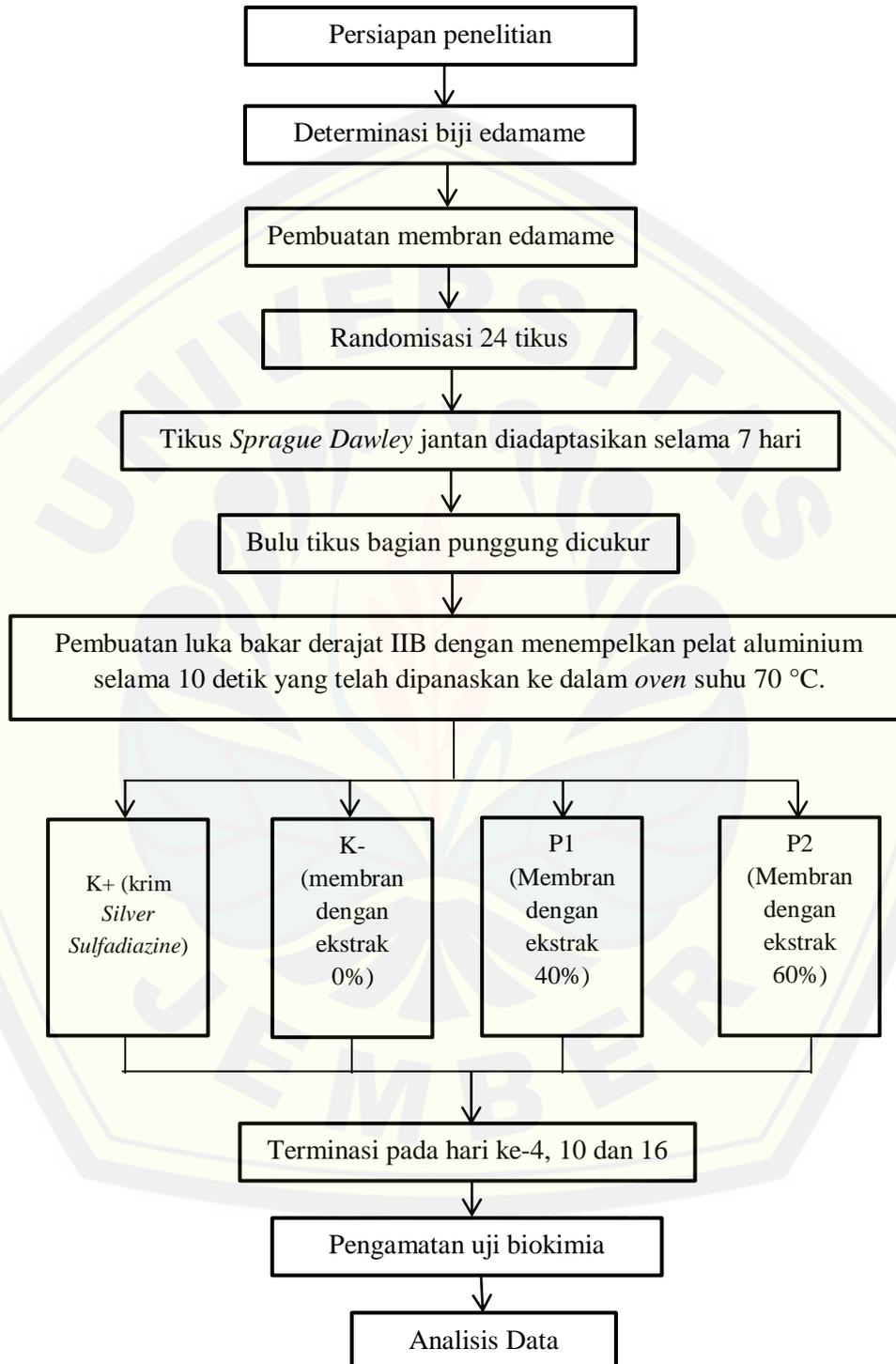
Alur pembuatan membran edamame dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.3 Alur pembuatan membran edamame

3.9.2 Alur Perlakuan Hewan Coba

Alur perlakuan hewan coba dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3.4. Alur penelitian hewan coba

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat diambil kesimpulan membran edamame meningkatkan kadar hidroksiprolin pada hari ke-4 dan 10, namun menurunkan kadar pada hari ke-16.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan oleh peneliti dari penelitian ini adalah:

1. Pengukuran kadar hidroksiprolin sebaiknya dilakukan pada lima waktu yang berbeda supaya didapatkan grafik parabola yang baik, sehingga diketahui pada hari ke berapa kadar hidroksiprolin mulai turun untuk menyimpulkan kelompok yang lebih cepat dalam mencapai fase maturasi.
2. Pengamatan proses penyembuhan luka sebaiknya dilakukan sampai luka menutup (fase maturasi) untuk mengetahui ada atau tidaknya *scar* hipertrofik.
3. Penelitian menggunakan membran sebaiknya dibandingkan dengan sediaan yang sama, seperti *tulle*.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, S. P. 2016. Validasi Metode Penetapan Kadar Asam Amino Hidroksiprolin Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Skripsi*. Tidak dipublikasikan. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- American Burn Association. 2009. Burns are acute injuries. *Surgical Management of The Burn Wound and Use of Skin Substitutes White Paper*.
- Astuti, S. 2008. Isoflavon kedelai dan potensinya sebagai penangkap radikal bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 13(2): 126-136.
- Caetano, G. F., M. Fronza, M. N. Leite, A. Gomes, dan M. A. C. Frade. 2015. Comparison of collagen content in skin wounds evaluated by biochemical assay and by computer-aided histomorphometric analysis. *Pharmaceutical Biology*. 54(11): 2555-2559.
- Cai, E. Z., C. H. Ang, A. Raju, K. B. Tan, E. C. H. Hing, Y. Loo, Y. C. Wong, H. Lee, J. Lim, S. M. Moochhala, C. A. Hauser, dan T. C. Lim. 2014. Creation of consistent burn wounds: A Rat Model. *Archives of Plastic Surgery*. 41:317-324.
- Carville, K. 2012. *Wound Care Manual 6ed Revised & Expanded*. Australia: Silver Chain, Pharmaceutical Society Of Australia Ltd.
- Chow, O. dan A. Barbul. 2014. Immunonutrition: role in wound healing and tissue regeneration. *Adv Wound Care*. 3(1): 46-53.
- Dhillon, M. K., K. Sandeep, dan G. T. Gujar. 2014. A common HPLC-PDA method for amino acid analysis in insects and plants. *Indian Journal of Experimental Biology* 52:73-79.
- Dhivya, S., V. V. Padma, dan E. Santhini. 2015. Wound dressings – a review. *BioMedicine*. 5 (4).
- Edwards, C. A. dan W. D. J. O'Brien. 1980. Modified assay for determination of hydroxyproline in a tissue hydrolyzate. *Clinica Chimica Acta*. 104(2): 161-167.
- Elfiah, U. dan N. Riasa. 2017. Epidemiology and Burns Referral in Secondary Burn Unit of Soebandi Hospital, Jember Regency, East Java – Indonesia. *BioMed Central Burns & Trauma The Open Access Publisher*.

- Febrianto, R., N. Farhanah, dan E. P. Sari. 2016. Hubungan Luka Bakar Derajat Sedang dan Berat Menurut Kategori American Burn Association dan Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kejadian Sepsis di RSUP DR. Kariadi. *Skripsi*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Firmansyah dan Dhuha, 2014. Kedelai Jember Tembus Pasar Internasional. Pusdatin Sekretariat Kabinet Republik Indonesia. <http://setkab.go.id/kedelai-jember-tembus-pasar-internasional/>. [Diakses tanggal 10 September 2019].
- Gandhi, M., C. Thomson, D. Lord, dan S. Enoch. 2010. Management of pain in children with burns. *International Journal of Pediatrics*.
- Giovany, L., K. A. Pamungkas, dan Inayah. 2015. Profil pasien luka bakar berat yang meninggal di RSUD Arifin Achmad Provinsi Riau periode Januari 2011-Desember 2013. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Riau*. 2(2): 1-10.
- Glat, P. M., W. D. Kubat, J. F. Hsu, T. Copty, B. A. Burkey, W. Davis, dan I. Goodwin. 2009. Randomized clinical study of silvasorb gel in comparison to silvadene silver sulfadiazine cream in the management of partial-thickness burns. *Journal of Burn Care and Research*. 30(2) : 262-267.
- Guo, S., dan L. A. DiPietro. 2010. Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*. 89(3): 219-229.
- Gupta, R., A. Garg, P. Sharma, dan P. Pandey. 2016. Wound healing and antioxidant effect of *Calliandra haematocephala* leaves on incision and excision wound models. *Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2(2): 34-39.
- Haines, E., dan H. Fairbrother. 2015. Optimizing emergency management to reduce morbidity and mortality in pediatric burn patients. *EB Medicine*. 12(5): 1-23.
- Hartini, I. G. A. A. 2012. Topical application of ethanol extract of starfruit leaves (*Averrhoa Blimbi Linn*) increase fibroblasts in gingival wounds healing of white male rats. *Indonesian Journal of Biomedical Science*. 6(1): 35-39.
- Handayani, L. T. 2016. Studi metaanalisis perawatan luka kaki diabetes dengan modern dressing. *The Indonesian Journal of Health Science*. 6(2).
- Hasanah, A. N. 2018. Efektivitas Ekstrak Etanol Biji Edamame (*Glycine max L. Merril*) terhadap Jumlah Fibroblas Pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat II. *Skripsi*. Tidak Dipublikasikan. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

- Hikino, H., dan Y, Kiso. 1988. Natural products for liver diseases. *Economic and Medicinal Plant Research*. 2: 39-72.
- Irrera, N., G. Pizzino, R. D'Anna, M.Vaccaro, V. Arcoraci, F. Squadrito, D. Altavilla, dan A. Bitto. 2017. Dietary management of skin health: the role of genistein. *Nutrients*. 9(622): 1-10.
- ISBI Practice Guidelines Committee. 2016. ISBI practice guidelines for burn care. *Burns*. 42(5): 953-1021.
- Jang, Y., Y. E. Park, C. W. Yun, D. H. Kim, dan H. Chung. 2016. The vest-collar as a rodent to prevent licking and scratching during experiments. *SAGE*. 50(4): 296-304.
- Kanchana, P., M. L. Santha, K. D. Raja. 2015. A review on *Glycine max* (L.) Merr (soybean). *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5(1): 356-371.
- Kara, Y. A. 2018. Burn etiology and pathogenesis: Hot topics in burn injuries. *IntechOpen*. 2: 17-33.
- Kassira, N., M. K. Glassberg, C. Jones, D. J. Pincus, S. J. Elliot, J. R. Fritz., ..S. Thaller. 2009. Estrogen deficiency and tobacco smoke exposure promote matrix metalloproteinase-13 activation in skin aging B6 mice. *Annals of Plastic Surgery*. 63: 318-322.
- Kokane, D. D., R. Y. More, M. B. Kale, M. N. Nehete, P. C. Mehendale, C. H. Gadgoli. 2009. Evaluation of wound healing activity of root of *Mimosa pudica*. *J Ethnopharmacol*. 124: 311–315.
- Kong, Ah-Ng T. 2014. *Inflammation, Oxidative Stress, and Cancer: Dietary Approaches for Cancer Prevention*. 1st ed. Florida: CRC Press.
- Kurahashi, T., J. Fuji, T. Shirato, T. Homma, dan J. Lee.. 2017. Oxidative stress caused by a SOD1 deficiency ameliorates thioacetamide-triggered cell death via CYP2E1 inhibition but stimulates liver steatosis. *Archives of Toxicology Springer*. 91(3): 1319-1333.
- LeMone, P., K. Burke, T. Dwyer, T. L. Jones, L. Moxham, dan K. R. Searl. 2014. *Medical-Surgical Nursing Critical Thinking for Person-Centered Care*. Edisi Kedua. Frenchs Forest: Pearson Australia.
- Li, P., dan G. Wu. 2017. Roles of dietary glycine, proline, and hydroxyproline in collagen synthesis and animal growth. *Amino Acids*. 50(1): 29-38.

- Liu, T., N. Li, Y. Yan, Y. Liu, K. Xiong, Y. Liu, Q. Xia, H. Zhang, dan Z. Liu. 2019. Recent advances in the anti-aging effects of phytoestrogens on collagen, water content, and oxidative stress. *Phytotherapy Research*. 2020(34): 435-447.
- Lu, P., K. Takai, V. M. Weaver, dan Z. Werb. 2011. Extracellular matrix degradation and remodeling in development and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 3(12).
- Mukhriani, T. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan*. 7(2): 361-367.
- Nayak, B. S., J. Kanhai, D. M. Milne, L. Pinto-Pereira, W. H. Swanston. 2011. Experimental evaluation of ethanolic extract of *Carapa guianensis* L. leaf for its wound healing activity using three wound models. *Evid Based Complement Alternat Med*. 1-6.
- Nemitz, M. C., R. C. Moraes, L. S. Koester, V. L. Bassani, G. L. von Poser, H. F. Teixeira. 2015. Bioactive soy isoflavones: Extraction and purification procedures, potential dermal use and nanotechnology-based delivery systems. *Phytochemistry Reviews*. 14: 849-869.
- Ningsih, W., H. Fitri dan Firmansyah. 2016. Formulasi masker *peel off* dengan beberapa konsentrasi ekstrak etanol buah naga super merah (*Hylocereus costaricensis* (F.A.C Weber) Britton & Rose). *Scientia*. 6(1): 18-24.
- Nisanci, M., M. Eski., I. Sahin., S. Ilgan., dan S. Isik. 2010. Saving the zone of stasis in burns with activated protein C: An experimental study in rats. *Science Direct*. 36(3): 397-402.
- Nofita, R., E. S. Ben., Y. Aldi, dan Yanwirasti. 2017. Pembuatan film balutan primer untuk luka bakar yang mengandung kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 19(1): 104-110.
- Nursiah, H., G. A. Baharuddin, dan Faradiba. 2011. Formulasi gel sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi* L.). *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 15(1): 5-9.
- Pan, S. 2013. Burn blister fluids in the neovascularization stage of burn wound healing: A comparison between superficial and deep-partial thickness burn wounds. *Burns and Trauma*. 1(1): 27-31.
- Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor HK.03.1.23.08.11.07517 Tahun 2011. 2011. *Persyaratan Teknis Bahan Kosmetik*. Jakarta: Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia.

- Pereira, D. S. T., M. H. M. Lima-Ribeiro, N. T. de Pontes-Filho, A. M. dos A. Carneiro-Leao, dan M. T. dos S. Correia. 2012. Development of animal model for studying deep second-degree thermal burns. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International*. 2012: 1-7.
- Poranki, D., C. Goodwin, dan M. Van Dyke. 2016. Assessment of deep partial thickness burn treatment with keratin biomaterial hydrogels in a swine model. *BioMed Research International*. 2016:1-10.
- Potter, A. dan A. G. Perry. 2010. *Buku Ajar Fundamental Keperawatan: Konsep, Proses, dan Praktik*. Edisi Ketujuh. Jakarta: EGC.
- Puspitasari, A. D., L. S. Prayogo. 2016. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar flavonoid total ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Ilmu Farmasi & Farmasi Klinik*. 13(2) : 16-23.
- Raffa, D., B. Manggio, M. V. Raimondi, F. Plescia, dan G. Daidone. 2017. Recent discoveries of anticancer flavonoids. *Eur J Med Chem* 2017: 1-49.
- Rajesh, K., S. T. Shrangdher, dan J. M. Koli. 2014. Physico-chemical properties of gelatin extracted from calta skin (*Calta catla*). *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Science*. 4:328-337.
- Reddy, G. K., dan C. S. Enwemeka. 1996. A simplified method for the analysis of hydroxyproline in biological tissues. *Clinical Biochemistry Journal Elsevier*. 29(3): 225-229.
- Rismana, E., I. Rosidah, P. Y., O. Bunga, dan Y. Erna. 2013. Efektivitas khasiat pengobatan luka bakar sediaan gel mengandung fraksi ekstrak pegagan berdasarkan analisis hidroksiprolin dan histopatologi pada kulit kelinci. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 41(1): 45-60.
- Riyanto, P., P. Subchan, H. Kariosentono, dan Darmono. 2015. Pengaruh isoflavin kedelai terhadap perbaikan derajat keparahan akne vulgaris akibat penurunan interleukin-8. *MDVI* 42(4): 171-175.
- Rogers, T. L. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipient*. Edisi Keenam. London: Pharmaceutical Press and American Pharmasist Association.
- Roska, T. P., S. Sahati, A. D. Fitrah, N. Juniarti, dan B. Djide. 2018. Efek sinergitas ekstrak kulit jeruk (*Citrus sinensis l*) pada patch bioselulosa dalam meningkatkan penyembuhan luka bakar. *Jurnal Farmasi Galenika*. 4(2): 87.

- Rowan, M. P., L. C. Cancio, E. A. Elster, D. M. Burneister, L. F. Rose, S. Natesan, R. K. Chan, R. J. Christy, dan K. K. Chung. 2015. Burn wound healing and treatment: review and advancements. *Critical Care*. 19(243): 1-12.
- Rowe, R. C., P. J. Sheskey, dan E. M. Quinn. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. USA: Pharmaceutical Press.
- Sakinah, E. N. 2017. *Syzygium samarangense* leaves ointment enhances wound healing process of skin burn based on collagen. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*. 3(3): 30-33.
- Samruan, W., R. Oonsivilai, dan A. Oonsivilai. 2012. Soybean and fermented soybean extract antioxidant activity. *International Journal of Nutrition and Food Engineering*. 6(12): 1134-7.
- Sanjaya, H., dan A. Wardhana. 2012. A better wound care assesment on burn patients. *Jurnal Plastik Rekonstruksi*. 1(5): 523-527.
- Saputra, D. Y. A. 2012. Perbedaan Penggunaan Gliserin, Propilenglikol, dan Madu Sebagai Bahan Humaktan Terhadap Sifat Fisis Sediaan *Bath Gel* Ekstrak Buhan Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Skripsi*. Surakarta: Diploma 3 Farmasi.
- Senarath-Yapa, K., dan S. Enoch. 2009. Management of burns in the community. *Wounds UK*. 5(2): 38-41.
- Sinno, H., dan S. Prakash. 2013. Complements and the wound healing cascade. *Plastic Surgery International*.
- Sjamsuhidajat, R. dan W. D. Jong. 2017. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Jakarta: EGC.
- Smeltzer, C. S., dan Bare, B. G. 2010. *Buku Ajar Keperawatan Medikal Bedah* Brunner & Suddart. Jakarta: EGC.
- Stoilov, I., B. C. Starcher, R. P. Mecham, dan T. J. Broekelmann. 2017. Measurement of elastin, collagen, and total protein levels in tissue. *Methods in Cell Biology*. 143(7): 133-146.
- Sugihartini, N., dan R. Y. Wiradhika. 2017. Gel formulation of ethanol extract of mangosteen peel (*Garcinia mangostana* L.) as a medication for burns in wistar rats. *Indonesian Journal of Medicine and Health*. 8 (2) : 110-117.
- Sujono, T. A., U. N. W. Hidayah, dan T. N. S. Sulaiman. 2014. Efek gel ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* L. Urban) dengan *gelling agent*

hidroksipropil methylcellulose terhadap penyembuhan luka bakar pada kulit punggung kelinci. *Biomedika*. 6(2): 9-17.

Susila, A. H., Sumarno, dan D. Dewi. 2014. Efek ekstrak jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) terhadap penurunan tanda inflamasi eritema pada tikus putih (*Rattus novergicus*) galur wistar dengan luka bakar derajat II. *Majalah Kesehatan UB*. 1(4): 214-222.

Tanaydin, V., J. Conings, M. Malyar, R. Hulst, dan B. Lei. 2016. The role of topical vitamin E in scar management: a systematic review. *Aesthetic Surgery Journal*. 36(8): 959-965.

Thomton, M. J. 2013. Estrogens and aging skin. *Dermato-endocrinology*. 5: 264-270.

Tiwari, V. K. 2012. Burn wound: How it differs from other wounds. *Indian: Journal of Plastic Surgery* 45: 364-373.

United States Departement of Agriculture. 2013. Classification for Kingdom Plantae Down to Species *Glycine max* (L.) Merr. <https://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=GLMA4> [Diakses pada 10 Oktober 2019].

Velnar, T., T. Bailey, dan V. Smrkoji. 2009. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *Journal of International Medical Research*. 37: 1528.

Venter, N. G., A. M. A. Costa, dan R. G. Marques. 2015. A new model for the standadization of experimental burn wounds. *Burns*. 41: 542-547.

Wachid, M. R., dan P. Setiarso. 2014. Pembuatan elektroda pasta karbon termodifikasi bentonit untuk analisis logam tembaga (II) dengan ion pengganggu timbal (II) dan merkuri (II) secara *cyclic voltametry stripping*. *Journal of Chemistry*. 3(3): 93-103.

Wang, H., P. A. Murphy. 1994. Isoflavone content in commercial soybean foods. *J Agric Food Chem*. 42: 1666-73.

Wardhana, A. 2014. *Panduan Praktis dan Manajemen Awal Luka Bakar*. Edisi Pertama. Jakarta: Lingkar Studi Bedah Plastik Foundation.

Wardhana, A., A. Basuki, A. D. H. Prameswara, D. N. Rizkita, A. A. Andarie, dan A. F. Cantika. 2017. The epidemiology of burns in Indonesia's national referral burn center from 2013 to 2015. *Burns Open*. 1:67-73.

- Wattanaploy, S., K. Chinaronchai, N. Namviriyachote, dan P. Muangman. 2017. Randomized controlled trial of polyhexanide/betaine gel versus silver sulfadiazine for partial-thickness burn treatment. *The International Journal of Lower Extremity Wounds*. 16(1): 45-50.
- Widati, F. dan I. M. Hidayat. 2012. *Kedelai Sayur (Glycine max L. Merrill) sebagai Tanaman Pekarangan*. Bandung: Balai Penelitian Tanaman Sayuran.
- World Health Organization. 2018. Burns. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/burns> [Diakses pada 7 Oktober 2019]
- Yatsu, F. K. J., L. S. Koester, dan V. L. Bassani. 2016. Isoflavone-aglycone fraction from *Glycine max*: a promising raw material for isoflavone-based pharmaceutical or nutraceutical products. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 26: 259-267.
- Yu, J., X. Bi, B. Yu, dan D. Chen. 2016. Isoflavones: anti-inflammatory benefit and possible caveats. *Nutrients*. 8(361): 1-16.
- Yulia, R., dan I. S. Wijaya. 2015. Senyawa antioksidan ekstrak methanol *Glycine max* (L.) Merr varietas detam 1 hasil ekstraksi ultrasonik. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*. 2(1): 66-71.

LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Etik Penelitian



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS JEMBER

KOMISI ETIK PENELITIAN

Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember
68121 – Email : fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK

ETHICAL APPROVA

Nomor : 1.352/H25.1.11/KE/2019

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

EFEKTIVITAS MEMBRAN EDAMAME TERHADAP KADAR HIDROKSIPROLIN DAN LUAS LUKA DALAM PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DERAJAT IIB

Nama Peneliti Utama : Bella Saphira Evani
Name of the principal investigator

NIM : 162010101044

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.

Jember, 27 Desember 2019
Ketua Komisi Etik Penelitian

Kiyanti, Sp.PK


Tanggapan Anggota Komisi Etik

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

Review Proposal :

1. Penggunaan hewan coba penelitian menjunjung tinggi prinsip perlakuan hewan coba dengan prinsip 3R (*Replacement, Reduce, Refinement*).
2. Determinasi edamamame yang digunakan.
3. Pembuatan luka bakar dilakukan oleh tenaga kompeten agar tidak menimbulkan rasa sakit.
4. Mohon diperhatikan kemungkinan terjadinya infeksi yang dapat menjadi bias dalam penelitian ini..
5. Pengukuran kadar hidrokspirolin dan luas luka bakar dilakukan oleh tenaga yang kompeten.
6. Mohon diperhatikan oleh peneliti, pembuangan limbah B3 dan sisa pemeliharaan agar tidak mencemari lingkungan.

Mengetahui
Ketua Komisi Etik Penelitian



Jember, 19 Desember 2019
Reviewer

dr. Ayu Munawaroh Aziz, M.Biomed

Tanggapan Anggota Komisi Etik

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

Review Proposal :

Penelitian ini dapat dilanjutkan dengan memperhatikan :

- Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada buku pedoman etik penelitian kesehatan (penggunaan hewan coba dengan prinsip 3R: *Replacement, Reduce, Refinement*).
- Meminimalisir rasa nyeri
- Harap diperhatikan perlakuan post terminasi.

Mengetahui
Ketua Komisi Etik Penelitian



Ami, Sp.PK

Jember, 26 Desember 2019
Reviewer

dr. Kristianingrum Dian Sofiana, M.Biomed

Lampiran 3.2 Determinasi Biji Edamame

**MITRATANI DUA TUJUH**

TAKSONOMI TANAMAN EDAMAME

KLASIFIKASI EDAMAME:

Divisio: Spermatophyta

Classis: Dicotyledonae

Ordo : Rosales

Familia: Papilionaceae

Genus : Glycine

Species: *Glycine max* (L.) Merrill (TTG Budidaya Pertanian, 2000; 1)

SYARAT TUMBUH EDAMAME:

Edamame memerlukan iklim dengan suhu 26 - 32°C dengan curah hujan relatif tinggi. Pada umumnya pertumbuhan tanaman akan baik pada tanah yang berketinggian 0 – 500 m dpl. Edamame tumbuh baik pada tanah alluvial, regosol, grumosol, latosol dan andosol. Ph tanah 5,8 – 7 dengan aerasi dan drainase yang sesuai. Edamame menghendaki tanah yang subur, gembur dan kaya bahan organik.

Jember, 19 Februari 2020

Novi Ambarwati

Kepala Divisi Perencanaan & Pengembangan

Committed To Quality

Jl. Brawijaya 83 Mangli, Jember 68136 Jawa Timur - Indonesia
Telp. 62-331-422222, 488881, 489457 Fax. 62-331-489456



MITRATANI DUA TUJUH

DESKRIPSI EDAMAME

Glycine max L. Merill

Var. MT 116

Tahun Pemakaian Varietas	: 2017
Pemilik	: PT. Mitratani Dua Tujuh Jember
Asal Galur	: Galur esensial dari varietas SPM1
Batang	
a. Warna Hipokotil	: Hijau
b. Tipe Tumbuh	: Determinit
c. Tipe Percabangan	: Tegak
d. Warna Bulu Coklat	: Muda
e. Tinggi Tanaman	: 38 – 45 cm
Daun	:
a. Tingkat cekungan daun	: Lemah
b. Bentuk Daun	: Oval
c. Ukuran Daun	: Sedang
d. Intensitas Hijau Daun	: Hijau
Bunga	
Warna Bunga	: Putih
Polong	
a. Intensitas coklat	: Sedang
Biji	
a. Ukuran	: Besar
b. Bentuk	: Bulat agak pipih
c. Warna Kulit Biji	: Hijau Kuning
d. Kecerahan Kulit Biji	: Mengkilap
e. Warna Kotiledon	: Hijau
f. Warna Hilum	: Coklat Muda
g. Berat / 100 biji	: 47,62 gram
Umur	:
a. Umur Berbunga 50 %	: 28 – 30 HST
b. Umur Masak Kering	: 88 – 95 HST
c. Umur Masak Segar	: 68 – 70 HST
Sifat Khusus	
Panen Polong Muda	
a. Rata-Rata Hasil Panen Segar	: 11,5 – 12,5 ton/hektar
b. Rata-Rata Panjang Polong	: 6,11 cm
c. Rata-Rata Lebar Polong	: 1,41 cm
d. Rata-Rata Berat Polong	: 3,75 cm

Committed To Quality

Jl. Brawijaya 83 Mangli. Jember 68136 Jawa Timur - Indonesia
Telp. 62-331-422222, 488881, 489457 Fax. 62-331-489456

Lampiran 3.3 Pembuatan Membran Edamame

Formula pembuatan basis gel mmenurut sujono

R/	HPMC	2 gram
	Propilenglikol	15 mL
	Metilparaben	0,18 gram
	Propilparaben	0,15 gram
	Aquades+DMSO 10%	ad 100 gram

Pembuatan membran disesuaikan dengan kebutuhan sampel yang akan diberi perlakuan membran. Total sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 48 ekor tikus. 48 ekor tikus dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yang berbeda. Berikut adalah jumlah tikus sesuai kelompok perlakuan dan hari perlakuan.

Kelompok perlakuan	Hari ke-									Total membran yang dibutuhkan
	0	3	4	6	9	10	12	15	16	
SSD	12 ekor	12 ekor	Terminasi	8 ekor	8 ekor	Terminasi	4 ekor	4 ekor	Terminasi	48 membran 0%
Membran 0%	12 ekor	12 ekor		8 ekor	8 ekor		4 ekor	4 ekor		
Membran 40%	12 ekor	12 ekor		8 ekor	8 ekor		4 ekor	4 ekor		
Membran 60%	12 ekor	12 ekor		8 ekor	8 ekor		4 ekor	4 ekor		

Berdasarkan tabel diatas, membran yang dibutuhkan selama penelitian berlangsung adalah 144 membran dengan rincian 48 membran 0%, 48 membran mengandung 40% ekstrak, dan 48 membran mengandung 60% ekstrak.

Masing-masing membran mengandung obat dengan berat yang sama yaitu 2 gram. Setiap pembuatan 1 membran 0% dibutuhkan 2 gram basis gel tanpa

penambahan ekstrak kental. Pembuatan 1 membran 40% dibutuhkan 0,8 gram ekstrak kental dan 1,2 gram basis gel. Pembuatan membran 60% dibutuhkan 1,2 gram ekstrak dan 0,8 gram basis gel.

Langkah kerja pembuatan membran adalah sebagai berikut:

1. Menghitung kebutuhan basis gel total selama penelitian.

a. Basis gel membran 0% = 2 gram

Total basis gel dalam 48 membran = 2 gram x 48
= 96 gram

b. Basis gel membran 40% = 1,2 gram

Total basis gel dalam 48 membran = 1,2 gram x 48
= 57,6 gram

c. Basis gel membran 60% = 0,8 gram

Total basis gel dalam 48 membran = 0,8 gram x 48
= 38,4 gram

Total basis gel yang dibutuhkan adalah 192 gram. Untuk memudahkan perhitungan, peneliti membulatkan menjadi 200 gram basis gel

2. Membuat gel dengan menggunakan perbandingan formula sujono (XX) sebanyak 200 gram basis gel. Formula yang digunakan adalah sebagai berikut:

R/	HPMC	4 gram
	Propilenglikol	30 mL
	Metilparaben	0,36 gram
	Propilparaben	0,30 gram
	Aquades+DMSO10%	add 200 gram

3. Menghitung kebutuhan ekstrak total selama penelitian

a. Membran 0% = 0 gram ekstrak

b. Membran 40% = 0,8 gram ekstrak

Total ekstrak dalam 48 membran = 0,8 gram x 48
= 38,4 gram

c. Membran 60% = 1,2 gram ekstrak

$$\begin{aligned} \text{Total ekstrak dalam 48 membran} &= 1,2 \text{ gram} \times 48 \\ &= 57,6 \text{ gram} \end{aligned}$$

Total ekstrak yang dibutuhkan selama penelitian adalah 96 gram

4. Menimbang dan mencampur basis gel dan ekstrak yang dibutuhkan masing kelompok
 - a. Membran 0% = 96 gram basis gel
 - b. Membran 40% = 38,4 gram ekstrak
+57,6 gram gel
 - c. Membran 60% = 57,6 gram ekstrak +
38,4 gram gel
5. Memotong kasa steril seluas 2cm x 2cm
6. Membagi sama rata sebanyak 2 gram obat pada masing membran sesuai ketentuan
7. Menyimpan membran di dalam wadah tertutup dan diletakkan di dalam lemari pendingin

Lampiran 3.4 Pembagian Kelompok Hewan Coba

Tabel 3.2 Tabel pembagian kelompok perlakuan

Nama Kelompok	Perlakuan yang diberikan
Kelompok K ₊ (I)	Luka bakar, pemberian normal saline, dan <i>Silver Sulfadiazine</i> yang diterminasi di hari ke-4
Kelompok K ₊ (II)	Luka bakar, pemberian normal saline, dan <i>Silver Sulfadiazine</i> yang diterminasi di hari ke-10
Kelompok K ₊ (III)	Luka bakar, pemberian normal saline, dan <i>Silver Sulfadiazine</i> yang diterminasi di hari ke-16
Kelompok K ₋ (I)	Luka bakar, pemberian normal saline, dan membran ekstrak edamame 0% yang diterminasi di hari ke-4
Kelompok K ₋ (II)	Luka bakar, pemberian normal saline, dan membran ekstrak edamame 0% yang diterminasi di hari ke-10
Kelompok K ₋ (III)	Luka bakar, pemberian normal saline, dan membran ekstrak edamame 0% yang diterminasi di hari ke-16
Kelompok P1 _(I)	Luka bakar, pemberian normal saline, dan membran ekstrak edamame 40% yang diterminasi di hari ke-4
Kelompok P1 _(II)	Luka bakar, pemberian normal saline, dan membran ekstrak edamame 40% yang diterminasi di hari ke-10
Kelompok P1 _(III)	Luka bakar, pemberian normal saline, dan membran ekstrak edamame 40% yang diterminasi di hari ke-16
Kelompok P2 _(I)	Luka bakar, pemberian normal saline, dan membran ekstrak edamame 60% yang diterminasi di hari ke-4
Kelompok P2 _(II)	Luka bakar, pemberian normal saline, dan membran ekstrak edamame 60% yang diterminasi di hari ke-10
Kelompok P2 _(III)	Luka bakar, pemberian normal saline, dan membran ekstrak edamame 60% yang diterminasi di hari ke-16

Lampiran 4.1 Proses Ekstraksi Biji Edamame

a. Proses Ekstraksi

Biji edamame seberat 5 kg dikupas, dicuci bersih dengan air mengalir, diangin-anginkan sampai kadar air berkurang selama 1-2 hari, lalu dimasukkan ke dalam oven bersuhu 50 °C selama 2-3 hari. Setelah kering biji edamame dihaluskan dengan mesin penggiling (*blender*) hingga terbentuk serbuk sebanyak 970 gram. Pembuatan ekstrak biji edamame dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% (1:10). Selama proses pembuatan, simplisia yang dicampurkan dengan etanol diaduk dengan mesin bernama *shaker* selama 24 jam. Setelah itu, dilakukan penyaringan untuk memisahkan filtrat dan residu. Kemudian, filtrat yang terkumpul diuapkan pada suhu 50 °C menggunakan *rotary evaporator* hingga akan didapat ekstrak kental biji edamame.

b. Jumlah Pelarut

Pelarut etanol 96% (1:10) yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 9700 mL.

c. Hasil Ekstraksi

Dari hasil ekstraksi didapatkan ekstrak kental biji edamame sebanyak 98 gram

Lampiran 4.2 Pengukuran Luas Luka

1. Luas Luka Bakar Hewan Coba Hari ke-4

Kelompok	Luas Luka (mm ²)	Rata-rata (mm ²)
SSD	387	389,25
	391	
	396	
	383	
K -	392	389
	384	
	394	
	386	
P1	393	385,75
	384	
	396	
	370	
P2	369	369,25
	372	
	375	
	361	

2. Luas Luka Bakar Hewan Coba Hari ke-10

Kelompok	Luas Luka (mm ²)	Rata-rata (mm ²)
SSD	213	219,75
	206	
	234	
	226	
K -	271	267
	276	
	269	
	252	
P1	202	200,75
	209	
	194	
	198	
P2	131	128,25
	148	
	125	
	109	

3. Luas Luka Bakar Hewan Coba Hari Ke-16

Kelompok	Luas Luka (mm ²)	Rata-rata (mm ²)
SSD	103	103,5
	96	
	105	
	110	
K -	210	201,25
	207	
	201	
	187	
P1	102	99
	91	
	98	
	105	
P2	93	83,25
	91	
	62	
	87	

Lampiran 4.3 Pengukuran Kadar Hidroksiprolin

1. Terminasi Hewan Coba Hari ke-4

Kelompok	Absorbansi	Kadar Hidroksiprolin ($\mu\text{g}/100 \text{ mg}$)	Rata-rata ($\mu\text{g}/100 \text{ mg}$)
SSD	0,621	4933	5198
	0,651	5233	
	0,684	5563	
	0,634	5063	
K -	0,384	2563	2625
	0,363	2353	
	0,434	3063	
	0,380	2523	
P1	0,763	6353	6368
	0,721	5933	
	0,790	6623	
	0,784	6563	
P2	0,901	7733	7708
	0,845	7173	
	0,870	7423	
	0,978	8503	

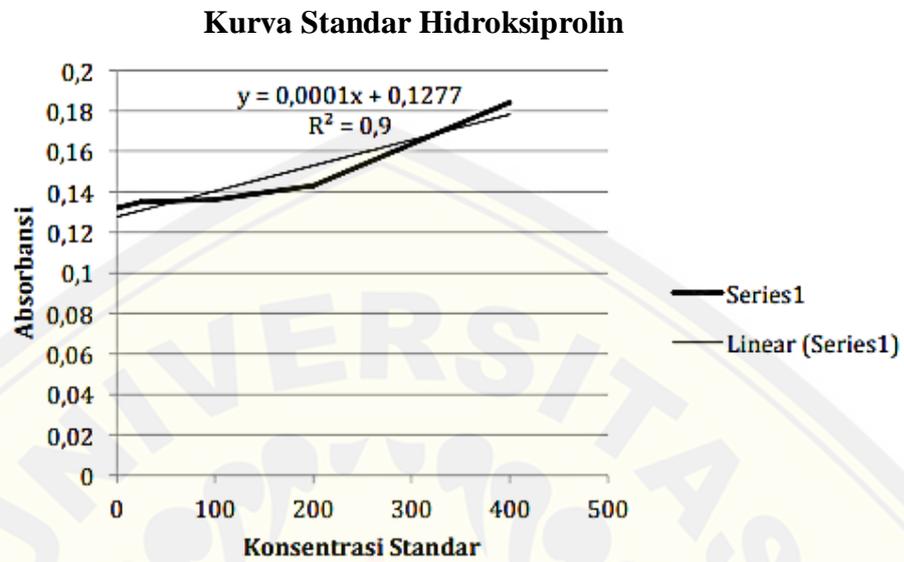
2. Terminasi Hewan Coba Hari ke-10

Kelompok	Absorbansi	Kadar Hidroksiprolin ($\mu\text{g}/100 \text{ mg}$)	Rata-rata ($\mu\text{g}/100 \text{ mg}$)
SSD	1,190	10623	9681
	1,093	9653	
	1,001	8733	
	1,099	9713	
K -	0,720	5923	7230
	0,986	8583	
	0,863	7353	
	0,834	7063	
P1	1,112	9873	9858
	1,110	9843	
	1,107	9793	
	1,120	9923	
P2	1,299	11623	12213
	1,290	11713	
	1,410	12823	
	1,397	12693	

3. Terminasi Hewan Coba Hari ke-16

Kelompok	Absorbansi	Kadar Hidroksiprolin ($\mu\text{g}/100 \text{ mg}$)	Rata-rata ($\mu\text{g}/100 \text{ mg}$)
SSD	0,952	8243	6575
	0,849	7213	
	0,617	4893	
	0,723	5953	
K -	1,010	8823	9125
	1,176	10483	
	0,960	8323	
	1,015	8873	
P1	0,550	4223	3660
	0,457	3293	
	0,555	4273	
	0,413	2853	
P2	0,405	2773	3288
	0,484	3563	
	0,353	2253	
	0,584	4563	

Lampiran 4.4 Kurva Standar Hidroksiprolin



Persamaan Kurva:

$$y = 0,0001x + 0,1277$$

Keterangan: y = nilai absorbansi sampel
x = kadar hidroksiprolin

Lampiran 4.5 Hasil Analisis Data Kadar Hidroksiprolin

a. Terminasi Hewan Hari Ke-4

Hari

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar	SSD	.199	4	.	.954	4	.744
Hidroksiprolin	K-	.331	4	.	.873	4	.312
	P1	.234	4	.	.886	4	.366
	P2	.233	4	.	.932	4	.608

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

Kadar Hidroksiprolin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.814	3	12	.510

ANOVA

Kadar Hidroksiprolin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	55.920	3	18.640	124.574	.000
Within Groups	1.796	12	.150		
Total	57.716	15			

Multiple Comparisons

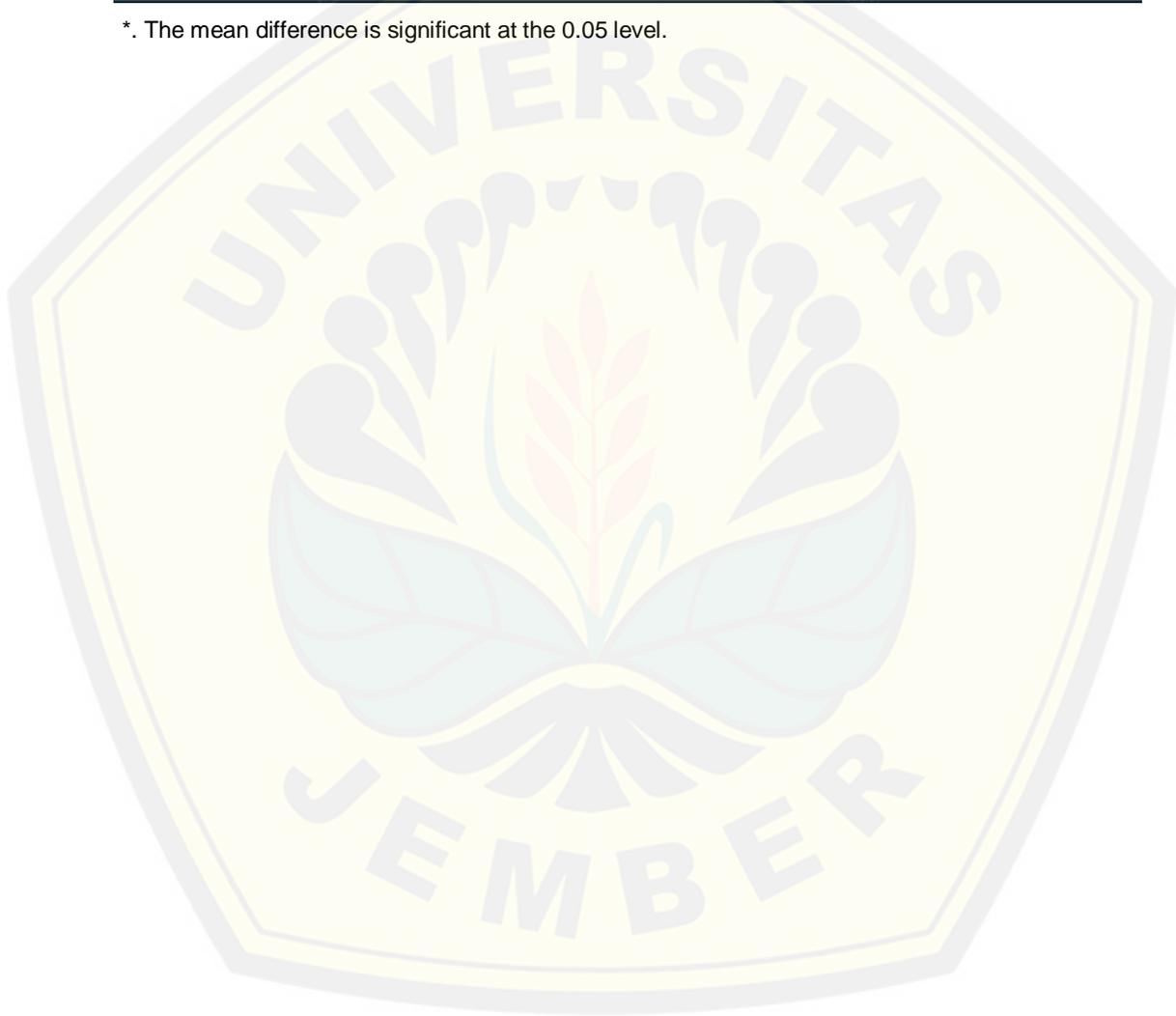
Dependent Variable: Kadar Hidroksiprolin

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
SSD	K-	2.572500 [*]	.273524	.000	1.97654	3.16846
	P1	-1.170000 [*]	.273524	.001	-1.76596	-.57404
	P2	-2.510000 [*]	.273524	.000	-3.10596	-1.91404
K-	SSD	-2.572500 [*]	.273524	.000	-3.16846	-1.97654

	P1	-3.742500*	.273524	.000	-4.33846	-3.14654
	P2	-5.082500*	.273524	.000	-5.67846	-4.48654
P1	SSD	1.170000*	.273524	.001	.57404	1.76596
	K-	3.742500*	.273524	.000	3.14654	4.33846
	P2	-1.340000*	.273524	.000	-1.93596	-.74404
P2	SSD	2.510000*	.273524	.000	1.91404	3.10596
	K-	5.082500*	.273524	.000	4.48654	5.67846
	P1	1.340000*	.273524	.000	.74404	1.93596

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



b. Terminasi Hewan Hari ke-10

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar	SSD	.236	4	.	.958	4	.768
Hidroksiprolin	K-	.205	4	.	.983	4	.919
	P1	.142	4	.	1.000	4	1.000
	P2	.285	4	.	.813	4	.127

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

Kadar Hidroksiprolin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.850	3	12	.192

ANOVA

Kadar Hidroksiprolin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	49.723	3	16.574	30.230	.000
Within Groups	6.579	12	.548		
Total	56.302	15			

Multiple Comparisons

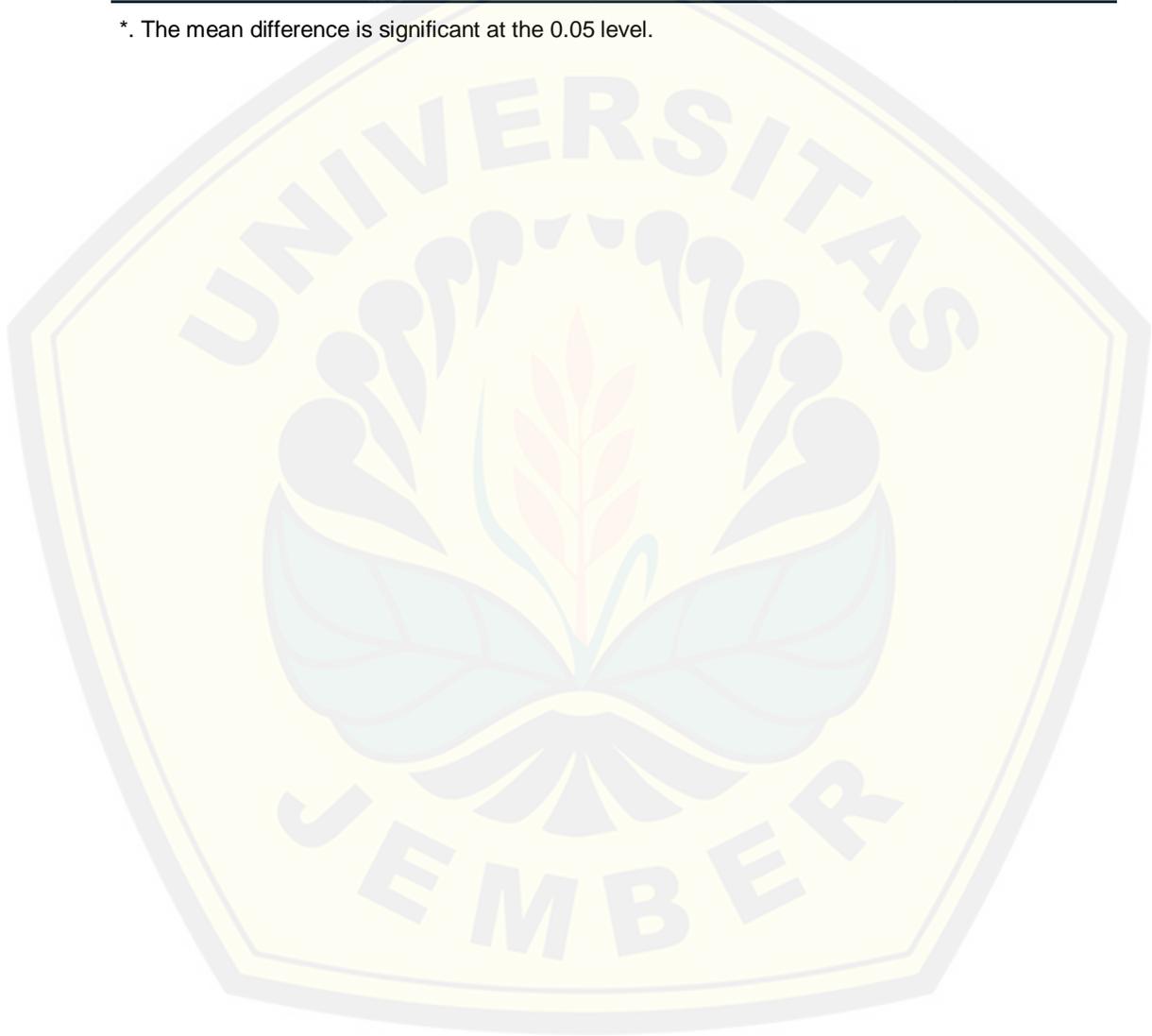
Dependent Variable: Kadar Hidroksiprolin

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
SSD	K-	2.45000*	.523579	.001	1.30922	3.59078
	P1	-.177500	.523579	.740	-1.31828	.96328
	P2	-2.53250*	.523579	.000	-3.67328	-1.39172
K-	SSD	-2.45000*	.523579	.001	-3.59078	-1.30922
	P1	-2.62750*	.523579	.000	-3.76828	-1.48672

	P2	-4.982500*	.523579	.000	-6.12328	-3.84172
P1	SSD	.177500	.523579	.740	-.96328	1.31828
	K-	2.627500*	.523579	.000	1.48672	3.76828
	P2	-2.355000*	.523579	.001	-3.49578	-1.21422
P2	SSD	2.532500*	.523579	.000	1.39172	3.67328
	K-	4.982500*	.523579	.000	3.84172	6.12328
	P1	2.355000*	.523579	.001	1.21422	3.49578

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



c. Terminasi Hewan Hari ke-16

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar	SSD	.169	4	.	.985	4	.931
Hidroksiprolin	K-	.356	4	.	.843	4	.206
	P1	.288	4	.	.864	4	.277
	P2	.196	4	.	.973	4	.858

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

Kadar Hidroksiprolin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.126	3	12	.377

ANOVA

Kadar Hidroksiprolin

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	89.889	3	29.963	26.509	.000
Within Groups	13.564	12	1.130		
Total	103.452	15			

Multiple Comparisons

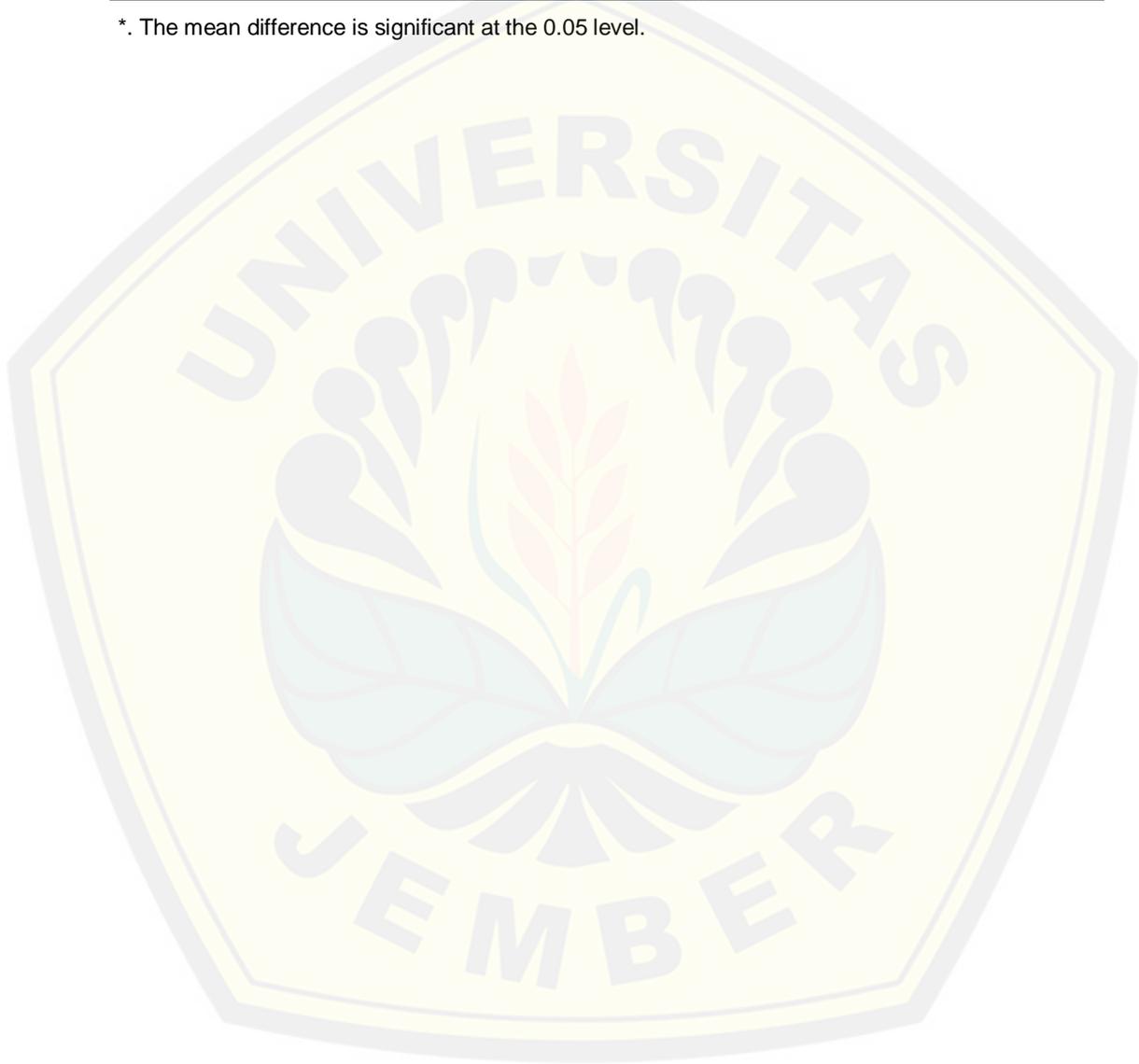
Dependent Variable: Kadar Hidroksiprolin

LSD

(I)	Mean	Std.	95% Confidence Interval			
Kelompok	(J) Kelompok	Difference (I-J)	Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
SSD	K-	-2.55000*	.751768	.005	-4.18796	-.91204
	P1	2.915000*	.751768	.002	1.27704	4.55296
	P2	3.287500*	.751768	.001	1.64954	4.92546
K-	SSD	2.550000*	.751768	.005	.91204	4.18796
	P1	5.465000*	.751768	.000	3.82704	7.10296
	P2	5.837500*	.751768	.000	4.19954	7.47546

P1	SSD	-2.915000*	.751768	.002	-4.55296	-1.27704
	K-	-5.465000*	.751768	.000	-7.10296	-3.82704
	P2	.372500	.751768	.629	-1.26546	2.01046
P2	SSD	-3.287500*	.751768	.001	-4.92546	-1.64954
	K-	-5.837500*	.751768	.000	-7.47546	-4.19954
	P1	-.372500	.751768	.629	-2.01046	1.26546

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



Lampiran 4.6 Analisis Data Hasil Luas Luka

a. Hasil pengukuran hari ke-4

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Luas_Luka	SSD	.157	4	.	.994	4	.975
	K-	.236	4	.	.911	4	.488
	P1	.233	4	.	.918	4	.523
	P2	.233	4	.	.942	4	.666

a. Lilliefors Significance Correction

		Test of Homogeneity of Variances			
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Luas_Luka	Based on Mean	1.546	3	12	.254
	Based on Median	1.262	3	12	.331
	Based on Median and with adjusted df	1.262	3	6.046	.368
	Based on trimmed mean	1.542	3	12	.255

		ANOVA				
Luas_Luka		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
	Between Groups	1085.188	3	361.729	6.400	.008
	Within Groups	678.250	12	56.521		
	Total	1763.438	15			

b. Hasil pengukuran hari ke-10

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Luas_Luka	SSD	.204	4	.	.961	4	.786
	K-	.326	4	.	.869	4	.292
	P1	.173	4	.	.981	4	.909
	P2	.182	4	.	.993	4	.970

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Luas_Luka	Based on Mean	.888	3	12	.475
	Based on Median	.812	3	12	.511
	Based on Median and with adjusted df	.812	3	8.026	.522
	Based on trimmed mean	.880	3	12	.479

ANOVA

Luas_Luka

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	39862.688	3	13287.563	93.561	.000
Within Groups	1704.250	12	142.021		
Total	41566.938	15			

c. Hasil pengukuran hari ke-16

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Luas_Luka	SSD	.216	4	.	.981	4	.908
	K-	.240	4	.	.903	4	.446
	P1	.190	4	.	.962	4	.792
	P2	.353	4	.	.778	4	.068

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Luas_Luka	Based on Mean	1.317	3	12	.314
	Based on Median	.377	3	12	.772
	Based on Median and with adjusted df	.377	3	5.777	.774
	Based on trimmed mean	1.104	3	12	.385

ANOVA

Luas_Luka

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	34612.500	3	11537.500	120.970	.000
Within Groups	1144.500	12	95.375		
Total	35757.000	15			



Lampiran 4.7 Dokumentasi Penelitian



Biji Edamame



Proses maserasi dengan *shaker*



Pembuatan basis gel



Membran edamame



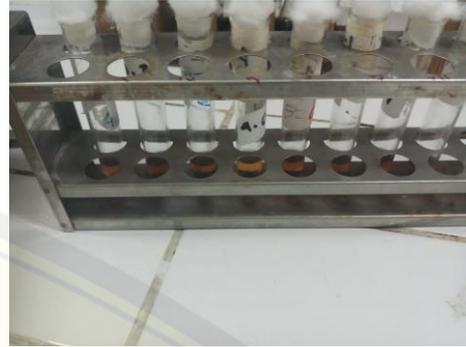
Pemberian membran



Bandage pada area luka



Pemeliharaan hewan coba



Sampel setelah ditambahkan Chloramin T, buffer sitrat, HClO₄, dan ehrlich, serta diinkubasi



Proses pengukuran hidroksiprolin



Pembacaan absorbansi sampel



Luka bakar derajat IIB

Lampiran 4.8 Surat Rekomendasi Bebas Plagiasi



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN
Alamat : Jalan Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto. Kotak Pos Jember 68121
Telp/Fax. (0331) 337877, 324446, *Faximili (0331) 337877
E mail : fk@unej.ac.id/Laman//www.fk.unej.ac.id

SURAT REKOMENDASI BEBAS PLAGIASINomor : **760** /UN25.1.11/PT/2020

Komisi Bimbingan KTI dan Publikasi, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya peningkatan kualitas dan originalitas karya tulis ilmiah mahasiswa berupa skripsi, telah melakukan pemeriksaan plagiasi atas skripsi mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Jember di bawah ini:

Nama : **Bella Saphira Evani**
NIM. : 162010101044
Angkatan : 2016

Judul Skripsi : **Efektivitas Membran Edamame terhadap Kadar Hidroksiprolin Serial dalam Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIB**

Bersama ini kami merekomendasikan dan menyatakan “ **Bebas Plagiasi** “

Demikian surat rekomendasi ini, atas perhatian saudara kami mengucapkan terima kasih.



Mengetahui,
Wakil Dekan I
dr. Ancah Caesarina Novi M. Ph.D
NIP. 19820309 200812 2 002

28 FEB 2020

Komisi Bimbingan KTI & Publikasi
Ketua,

Dr. dr. Yunita Armiyanti, M.Kes
NIP. 19740604 200112 2 002