



**EFEK PEMBERIAN MEMBRAN BAKIKO (BAYAM- KITOSAN-
KOLAGEN) TERHADAP JUMLAH FIBROBLAS PADA
LUKA BAKAR DERAJAT II**

SKRIPSI

Oleh
Shofi Iqda Islami
NIM 142010101102

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



EFEK PEMBERIAN MEMBRAN BAKIKO (BAYAM-KITOSAN-KOLAGEN) TERHADAP JUMLAH FIBROBLAS PADA LUKA BAKAR DERAJAT II

SKRIPSI

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

Oleh
Shofi Iqda Islami
NIM 142010101102

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT, dengan segala kasih sayang dan karunia-Nya yang tak pernah henti membuat saya bersyukur akan nikmat iman Islam yang telah menjadi penerang dan pedoman dalam proses belajar selama ini;
2. Orang tua tersayang, Ayahanda Sulistiawan, Ibunda Nur Aida Rachmawati dan Adik- adik saya Nida' Karimah, Nibras Asykarul Haq, Saniyya Hanifa yang telah memberikan dukungan doa, semangat, kasih sayang, bimbingan, dan telah meninggikan mimpi-mimpi saya;
3. Guru-guru saya dari masa taman kanak-kanak hingga kuliah, karena ilmu yang mereka berikan menjadikan saya pribadi yang lebih berguna;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas kesempatan belajar dan menjadi bagian keluarga besar di dalamnya.

MOTO

“Tetapi boleh jadi kamu tidak menyukai sesuatu, padahal itu baik bagimu, dan boleh jadi kamu menyukai sesuatu, padahal itu tidak baik bagimu. Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui.” (Q.S Al-Baqarah: 216)^{*)}

“Wahai orang-orang yang beriman jadilah penolong-penolong (agama) Allah”
(Q.S As-Saff: 14)^{*)}

^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2009. *Al-Qur'an dan Terjemahannya*.

CV. Pustaka Alfatih

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Shofi Iqda Islami

NIM : 142010101102

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Efek Pemberian Membran BAKIKO (Bayam-Kitosan-Kolagen) terhadap Jumlah Fibroblas pada Luka Bakar Derajat II” 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, Januari 2018

Yang menyatakan,

Shofi Iqda Islami
NIM 142010101102

SKRIPSI

**EFEK PEMBERIAN MEMBRAN BAKIKO (BAYAM- KITOSAN-
KOLAGEN) TERHADAP JUMLAH FIBROBLAS PADA
LUKA BAKAR DERAJAT II**

Oleh
Shofi Iqda Islami
NIM 142010101102

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Al Munawir, M.Kes, Ph.D.

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Ida Srisurani Wiji Astuti, M.Kes.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efek Pemberian Membran Bakiko (Bayam-Kitosan- Kolagen) terhadap Jumlah Fibroblas pada Luka Bakar Derajat II” karya Shofi Iqda Islami telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : 22 Januari 2017

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

dr. Ulfa Elfiah, M.Kes, Sp.BP-RE.
19760719 200112 2 001

Anggota II,

dr. Al Munawir, M.Kes, Ph.D.
NIP 19690901 199903 1 003

Anggota I,

dr. Heni Fatmawati, M.Kes, Sp.Rad.
19760212 200501 2 001

Anggota III,

dr. Ida Srisurani Wiji Astuti, M.Kes.
NIP 19820901 200812 2 001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember,

dr. Enny Suswati, M.Kes.

NIP 19700214 199903 2 001

RINGKASAN

Efek Pemberian Membran BAKIKO (Bayam-Kitosan-Kolagen) terhadap Jumlah Fibroblas pada Luka Bakar Derajat II; Shofi Iqda Islami, 142010101102; 2017; 71 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Luka bakar merupakan masalah kesehatan dunia yang berhubungan dengan morbiditas dan mortalitas. Data WHO tahun 2016 menyebutkan, setiap tahunnya, sekitar 265.000 kematian terjadi akibat luka bakar dan hampir setengahnya terjadi di Asia Tenggara, termasuk Indonesia (Puspitasari, 2015). Salah satu komplikasi yang ditimbulkan oleh luka bakar yaitu terbentuknya jaringan parut patologis. Sebanyak 38% pasien luka bakar mengalami jaringan parut patologis (hipertrofi dan keloid) akibat penyembuhan luka yang lama (Gangemi *et al.*, 2008). Obat lokalis luka bakar merupakan faktor yang berperan dalam penyembuhan luka. Salah satu obat lokalis yang mudah didapatkan oleh masyarakat yaitu gel yang mengandung ekstrak plasenta dan neomisin sulfat. Namun, pada sebagian orang obat ini menimbulkan reaksi hipersensitifitas (Burhanudin, 2014).

Penelitian menunjukkan bahwa bayam, kitosan, dan kolagen dapat membantu proses penyembuhan luka. Senyawa arginin, glutamin, vitamin C, *linoleic acid*, dan *lechitin* pada bayam dapat meningkatkan proliferasi sel fibroblas. Kitosan juga dapat menginduksi proliferasi sel fibroblas dan memiliki aktivitas anti bakteri. Suplementasi kolagen dibutuhkan sejak awal penyembuhan luka karena kolagen merupakan unsur utama dalam *matrix extra cellular*. Peningkatan proliferasi fibroblas yang diinduksi oleh senyawa dan bahan yang telah disebutkan memungkinkan adanya peningkatan jumlah fibroblas selama fase proliferasi. Peningkatan proliferasi fibroblas memicu peningkatan sintesis *matrix extra cellular* sehingga fase proliferasi dapat selesai lebih cepat dan penyembuhan luka akan lebih cepat terjadi.

Berdasarkan penjelasan tersebut, penelitian ini ingin menjelaskan efek penggabungan Bayam-Kitosan-Kolagen (Bakiko) dalam bentuk membran sebagai terapi luka bakar derajat II dalam gambaran histologis kulit melalui pengamatan jumlah fibroblas pada proses penyembuhan luka. Manfaat penelitian ini antara lain sebagai masukan dalam pengembangan ilmu pengetahuan kedokteran dan menambah informasi mengenai mengembangkan obat topikal luka bakar, serta bagi peneliti untuk menambah wawasan dan mengaplikasikan *evidence based medicine* dalam pengembangan obat topikal luka bakar.

Penelitian ini menggunakan desain *true experimental laboratories* dengan *post test only control group design*. Sampel penelitian yaitu 27 tikus yang terbagi menjadi tiga kelompok kontrol positif, tiga kelompok kontrol negatif, dan tiga kelompok perlakuan. Induksi luka bakar derajat II dibuat sebagai luka bakar kontak dengan diameter pelat logam 2cm yang dipanaskan hingga 105°C dan dikontakkan dengan kulit selama 5 detik. Kelompok kontrol negatif diinduksi luka bakar dan tidak dilakukan terapi, kelompok kontrol positif diberi terapi *Bioplacenton*, dan kelompok perlakuan diberi terapi membran Bakiko.

Hewan coba diterminasi pada hari ke-3, 7, dan 21. Pengamatan jaringan kulit dilakukan dengan metode *double blinding*. Perhitungan jumlah fibroblas dilakukan dengan menggunakan aplikasi *imageJ*. Hasil perhitungan ini dirata-rata dan dianalisis secara statistik menggunakan *Shapiro-Wilk* untuk menguji normalitas dan dilanjutkan dengan uji homogenitas *Lavene's test*. Uji beda yang digunakan yaitu *One Way Anova* dan *Kruskal Wallis* kemudian dilanjutkan dengan *post-hoc*.

Uji *One Way ANOVA* menunjukkan hasil yang signifikan pada hari ke-3 dengan $p = 0,000$ tetapi tidak signifikan pada hari ke-21 dengan $p = 0,065$. Uji *Kruskal Wallis* menunjukkan hasil yang signifikan pada hari ke-7 dengan $p = 0,004$. Uji *post-hoc* dengan LSD dilakukan untuk hari ke-3 dan didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol positif terhadap kelompok kontrol negatif ($p = 0,000$) dan kelompok kontrol negatif terhadap kelompok perlakuan ($p = 0,002$). Uji LSD juga dilakukan untuk hari ke-21, hanya didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol positif terhadap

kelompok kontrol negatif ($p = 0,022$). Uji *post-hoc Mann-Whitney* dilakukan untuk data hari ke-7, didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol positif terhadap kelompok kontrol negatif ($p = 0,002$), kelompok kontrol positif terhadap kelompok perlakuan ($p = 0,041$), dan kelompok kontrol negatif terhadap perlakuan ($p = 0,002$). Membran Bakiko dapat meningkatkan jumlah fibroblas pada secara signifikan pada hari ke- 3 dan ke-7 fase proliferasi sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat efek yang bermakna mengenai pemberian membran Bakiko terhadap jumlah fibroblas pada luka bakar derajat II.



PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Pemberian Membran BAKIKO (Bayam- Kitosan- Kolagen) terhadap Jumlah Fibroblas pada Luka Bakar Derajat II”. Skrikpsi ini diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Jember (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran.

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

1. dr. Enny Suswati, M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. Dosen Pembimbing Utama dr. Al Munawir, M.Kes, Ph.D dan Dosen Pembimbing Anggota dr. Ida Srisurani Wiji Astuti, M.Kes yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
3. Dosen Penguji I dr. Ulfa Elfiah, Sp.BP-RE dan Dosen Penguji II dr. Heni Fatmawati, M.Kes, Sp.Rad yang telah meluangkan waktu dan memberikan saran untuk skripsi ini;
4. Dosen Pembimbing Akademik dr. Ulfa Elfiah, Sp.BP-RE yang telah memberikan bimbingan selama penulis menjadi mahasiswa;
5. Ayahanda Sulistiawan, Ibunda Nur Aida Rachmawati, dan Adik- adik tersayang Nida' Karimah, Nibras Asykarul Haq, Saniyya Hanifa yang selalu menjadi motivasi terbesar saya;
6. Rekan sekelompok Dita Puspita Damayanti, Hazmi Dwinanda Nurqistan, Sarwendah Siswi Winasis, dan Adinningtyas Intansari yang telah memberi bantuan pikiran;
7. Sahabat- sahabat saya Nihayah, Trinita, Mega, Amalia, Lusiana, Dita, Rifqia, April, dan Ain yang tak henti- henti memberi semangat dan bantuan;
8. Angkatan TBM Vertex XII dan seluruh keluarga besar TBM Vertex;
9. Keluarga besar angkatan 2014 “Elixir”;

10. Para staf dan pengajar di FK Unej yang telah memberikan banyak bantuan selama saya menjalani kuliah di FK Unej;
11. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat saya sebut satu per satu, terima kasih atas segala bantuan.

Penulis juga sangat menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi manfaat bagi siapa saja yang membacanya.

Jember, Januari 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
PERSEMBAHAN	iii
MOTO	iv
PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Luka Bakar	4
2.1.1 Pengertian	4
2.1.2 Patofisiologi.....	4
2.1.3 Klasifikasi Derajat	5
2.1.4 Penyembuhan Luka Bakar.....	8
2.1.5 Terapi Luka Bakar	11
2.2 Bayam	13
2.2.1 Definisi	13
2.2.2 Morfologi.....	14
2.2.3 Kandungan dan Fungsi	14
2.3 Kitosan	15
2.4 Kolagen	16
2.5 Fibroblas	17
2.6 Kerangka Konseptual Penelitian	18
2.7 Hipotesis	19
BAB 3. METODE PENELITIAN	20
3.1 Jenis Penelitian	20
3.2 Rancangan Penelitian	20
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.4 Populasi dan Sampel	22
3.4.1 Populasi	22

3.4.2 Sampel	22
3.4.3 Besar Sampel	23
3.5 Variabel Penelitian	23
3.5.1 Variabel Bebas.....	23
3.5.2 Variabel Terikat.....	23
3.5.3 Variabel Terkendali	23
3.6 Definisi Operasional	24
3.7 Bahan dan Alat Uji yang Digunakan	25
3.7.1 Bahan	25
3.7.2 Alat	25
3.8 Prosedur Penelitian	25
3.8.1 Pemilihan Sampel Tikus	25
3.8.2 Proses Adaptasi Tikus	25
3.8.3 Ekstraksi Bayam	26
3.8.4 Pembuatan Membran Bakiko	26
3.8.5 Tahap Perlakuan	26
3.8.6 Pengambilan Jaringan Kulit	27
3.8.7 Pembuatan Preparat Histopatologi	27
3.9 Analisis Data	29
3.10 Alur Penelitian	30
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Hasil	31
4.1.1 Data Hasil Penelitian	32
4.1.2 Hasil Analisis Statistik.....	42
4.2 Pembahasan	47
BAB 5. PENUTUP.....	51
5.1 Kesimpulan.....	51
5.2 Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	52

DAFTAR TABEL

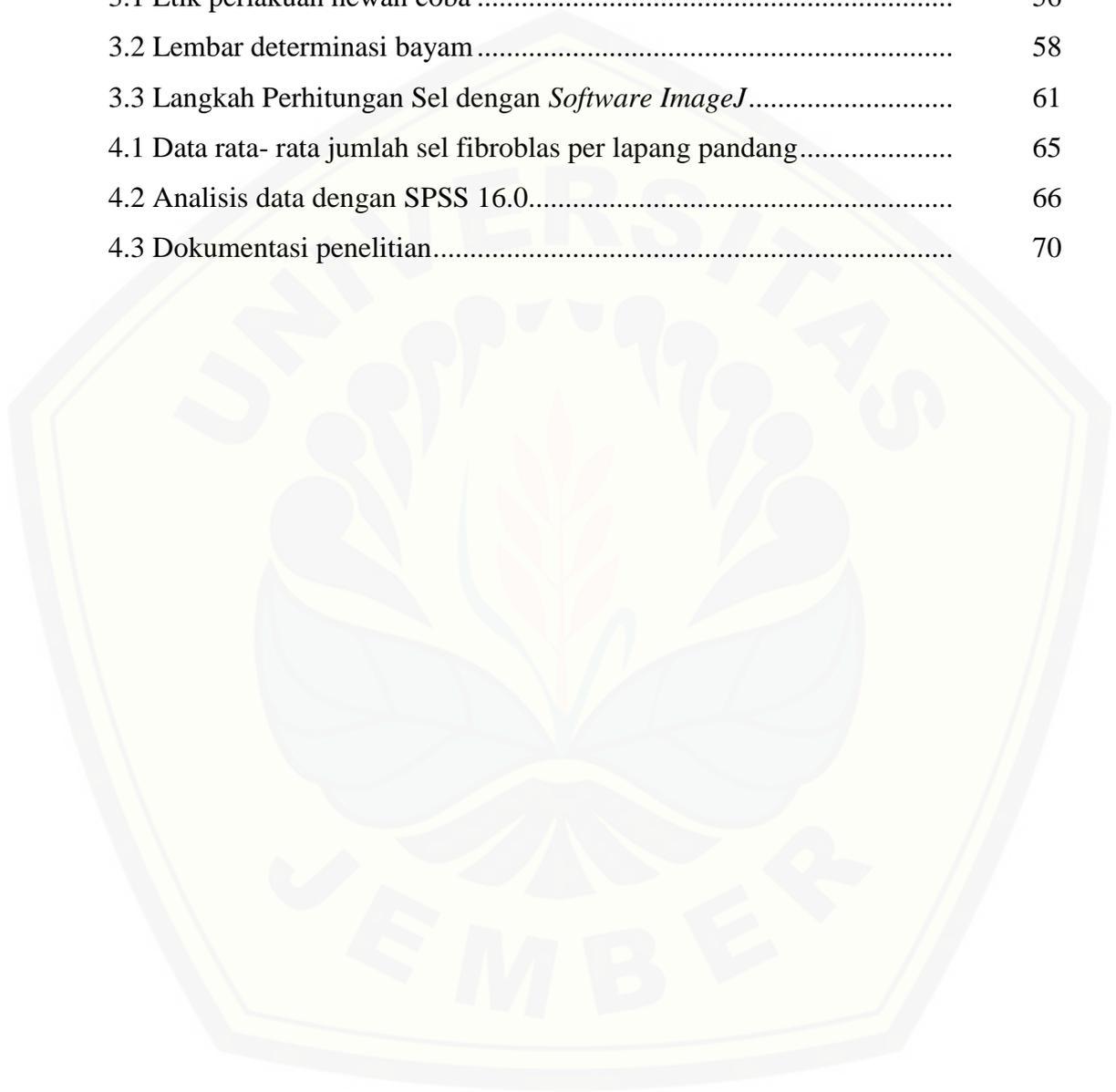
	Halaman
3.1 Definisi operasional dan skala pengukuran variabel.....	24
4.1 Hasil rata- rata jumlah fibroblas per lapang pandang	32
4.2 Hasil uji normalitas data dengan <i>Shapiro-Wilk</i>	43
4.3 Hasil uji homogenitas dengan <i>Lavene's test</i>	44
4.4 Hasil uji homogenitas transformasi data hari ke-7 dengan <i>Lavene's test</i>	44
4.5 Hasil uji <i>One Way Anova</i>	45
4.6 Hasil uji <i>Kruskal Wallis</i>	45
4.7 Hasil uji <i>Post-hoc LSD</i>	46
4.8 Hasil uji <i>Post-hoc Mann-Whitney</i>	47

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Zona luka bakar.....	5
2.2 Gambar skematis kedalaman dan klinis luka bakar derajat I.....	6
2.3 Gambar skematis kedalaman dan klinis luka bakar derajat IIA	6
2.4 Gambar skematis kedalaman dan klinis luka bakar derajat IIB.....	7
2.5 Gambar skematis kedalaman dan klinis luka bakar derajat III	8
2.6 Fase penyembuhan luka, waktu dan sel karakteristik	9
2.7 Estimasi luas luka bakar menggunakan rumus <i>rule of nine</i>	12
2.8 <i>Amaranthus tricolor</i>	14
2.9 Grafik alur kerangka koseptual penelitian	18
3.1 Skema rancangan penelitian.....	20
3.2 Lapang pandang yang digunakan untuk menghitung	29
3.3 Skema perlakuan hewan coba	30
4.1 Diagram garis rata- rata jumlah fibroblas per lapang pandang	33
4.2 Histopatologi kulit hari ke-3	34
4.3 Histopatologi kulit hari ke-7	35
4.4 Histopatologi kulit hari ke-21	36

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Etik perlakuan hewan coba	56
3.2 Lembar determinasi bayam	58
3.3 Langkah Perhitungan Sel dengan <i>Software ImageJ</i>	61
4.1 Data rata- rata jumlah sel fibroblas per lapang pandang.....	65
4.2 Analisis data dengan SPSS 16.0.....	66
4.3 Dokumentasi penelitian.....	70



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka bakar merupakan masalah kesehatan dunia yang berhubungan dengan morbiditas dan mortalitas. Sebagian besar kasus luka bakar terjadi di negara-negara berpenghasilan menengah ke bawah. Data WHO tahun 2016 menyebutkan, setiap tahunnya, sekitar 265.000 kematian terjadi akibat luka bakar dan hampir setengahnya terjadi di Asia Tenggara, termasuk Indonesia (Puspitasari, 2015). Penelitian yang dilakukan lebih dari 16 tahun menunjukkan LA50 pada kelompok umur 15-44 sebesar 63%. Angka mortalitas akibat luka bakar pada pasien sangat muda dan tua masih menunjukkan peningkatan (Sabiston, 2012).

Salah satu komplikasi yang ditimbulkan oleh luka bakar yaitu terbentuknya jaringan parut yang patologis. Penelitian yang dilakukan Deitch, 1983 menyebutkan bahwa 38% pasien luka bakar mengalami jaringan parut patologis (hipertrofi dan keloid). Salah satu faktor risiko terbentuknya jaringan parut patologis tersebut yaitu penyembuhan luka yang lama (OR, 1.15; 95% CI, 1.02-1.29) (Gangemi *et al.*, 2008). Hasil yang dianggap baik pada perawatan luka bakar yaitu apabila didapatkan waktu penyembuhan minimal dengan komplikasi minimal. Perawatan lokal luka bakar merupakan salah satu faktor yang berperan dalam penyembuhan luka bakar (Adrianto, 2003).

Pengobatan lokalis pada luka bakar mengandung bahan seperti antimikroba, anti inflamasi, antioksidan, dan memberikan kelembaban pada luka (Puspitasari, 2015). Salah satu obat topikal yang biasa digunakan dan dapat dengan mudah didapatkan di pasaran adalah merk komersil yang mengandung ekstrak plasenta 10%, neomisin sulfat 0.5%, dan air dalam bentuk gel (Silalahi dan Surbakti, 2015). Ekstrak plasenta bekerja memicu pembentukan jaringan baru dan neomisin sulfat sebagai antibiotik mencegah infeksi pada area luka (Nur, 2017). Namun pada beberapa orang, obat ini menyebabkan iritasi kulit yang ditandai timbulnya bintik merah pada kulit (Burhanudin, 2014).

Tanaman bayam yang telah lama dikonsumsi sebagai makanan ternyata juga bermanfaat untuk penyembuhan luka. Menurut penelitian Rahati (2015)

menunjukkan bahwa secara signifikan bayam dapat meningkatkan pembentukan jaringan granulasi pada proses penyembuhan luka diabetes mellitus ($p\text{ value}=0.007$). Senyawa efektif pada bayam berperan dalam mencegah infeksi bakteri, meningkatkan pembentukan jaringan granulasi, dan mengikat radikal bebas yang menyebabkan kerusakan sel (Rahati *et al.*, 2015).

Kitosan dan kolagen merupakan bahan yang dapat membantu proses penyembuhan luka dengan membantu perbaikan jaringan yang rusak dan sifat antibakteri yang dimilikinya. Menurut penelitian Kirichenko (2013) menunjukkan bahwa *dressing* luka bakar menggunakan kitosan-kolagen secara signifikan dapat meningkatkan pembentukan jaringan granulasi ($p\text{ value}< 0.05$). Kitosan memiliki beberapa aktivitas biokimia seperti anti-infeksi, stimulasi angiogenesis, dan aktivasi *growth factor* (Nguyen *et al.*, 2014). Kolagen merupakan unsur penting matriks ekstraselular (ECM) yang memiliki efek homeostasis, antigenitas rendah, biokompatibilitas yang baik, dan kekuatan mekanik yang tinggi pada jaringan lunak (Walters dan Stegemann, 2014).

Berdasarkan beberapa penelitian yang ada, bayam, kitosan, dan kolagen bermanfaat dalam proses penyembuhan luka. Peneliti ingin melihat adanya efek penggabungan Bayam-Kitosan-Kolagen (BAKIKO) dalam bentuk membran sebagai terapi luka bakar derajat II dalam gambaran histologis kulit melalui pengamatan jumlah fibroblas pada proses penyembuhan luka.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana efek pemberian membran BAKIKO (Bayam- Kitosan-Kolagen) terhadap jumlah fibroblas pada luka bakar derajat II kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan perlakuan selama proses penyembuhan luka?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah menjelaskan efek pemberian membran BAKIKO (Bayam- Kitosan Kolagen) terhadap jumlah fibroblas pada luka bakar derajat II.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

a. Bagi Institusi Pemerintah

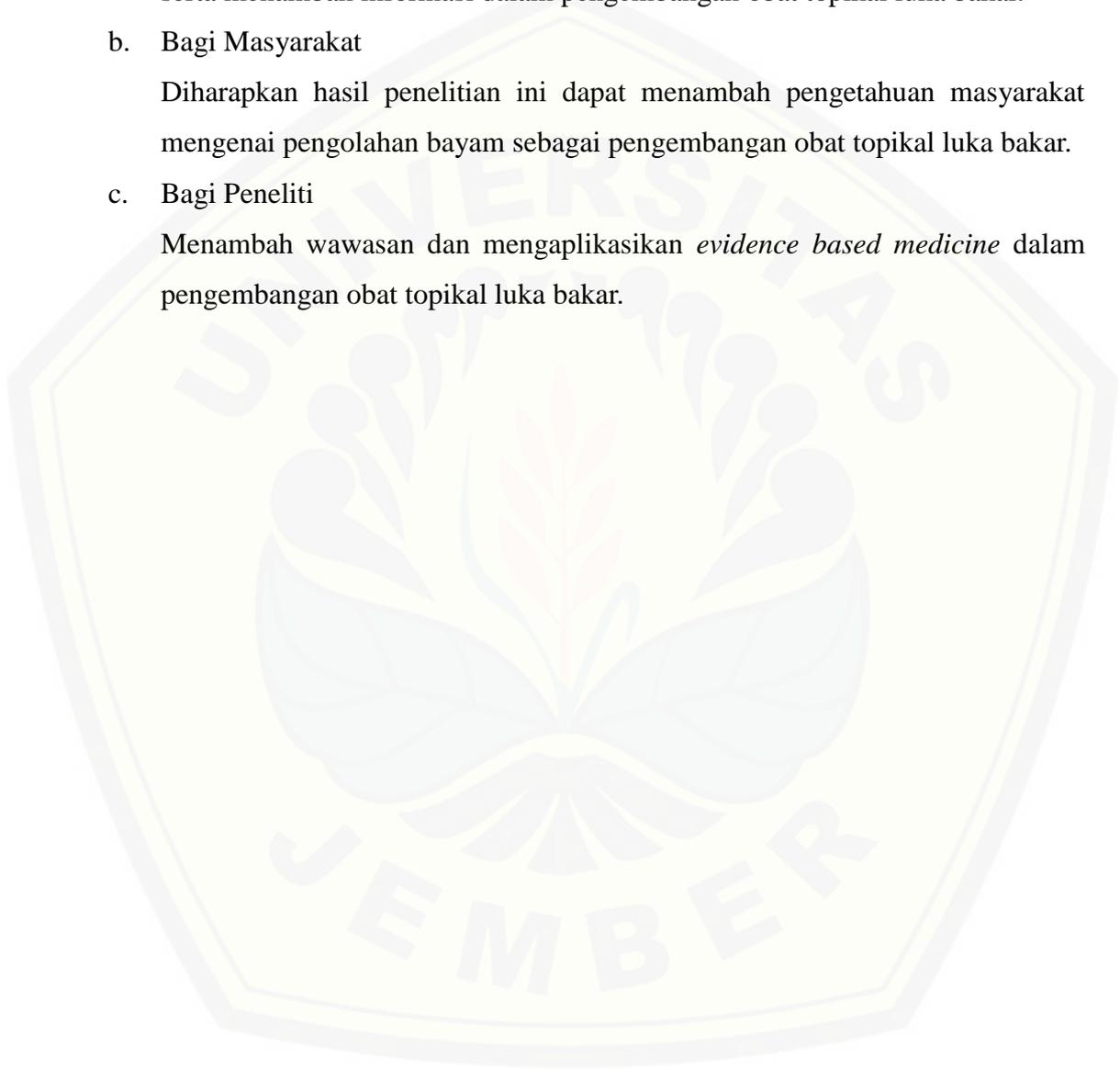
Diharapkan dapat menjadi masukan bagi pengembangan ilmu kedokteran serta menambah informasi dalam pengembangan obat topikal luka bakar.

b. Bagi Masyarakat

Diharapkan hasil penelitian ini dapat menambah pengetahuan masyarakat mengenai pengolahan bayam sebagai pengembangan obat topikal luka bakar.

c. Bagi Peneliti

Menambah wawasan dan mengaplikasikan *evidence based medicine* dalam pengembangan obat topikal luka bakar.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

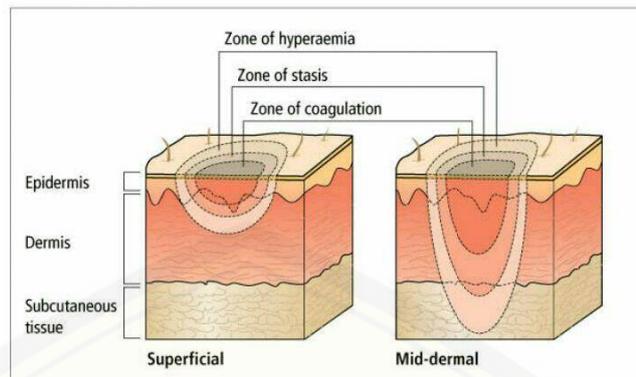
2.1 Luka Bakar

2.1.1 Pengertian

Luka bakar ialah kehilangan atau kerusakan jaringan akibat kontak dengan sumber panas seperti air, api, bahan kimia, listrik, dan radiasi. Luka bakar tidak hanya menyebabkan kerusakan kulit, tetapi juga dapat mempengaruhi sistem tubuh (Puspitari, 2015). Luka bakar suhu pada tubuh terjadi baik karena konduksi panas langsung atau radiasi elektromagnetik. Sumber radiasi elektromagnetik meliputi sinar x, gelombang mikro, sinar ultraviolet, dan cahaya tampak. Radiasi ini dapat merusak jaringan baik dengan panas (gelombang mikro) atau ionisasi (sinar x) (Sabiston, 2012).

2.1.2 Patofisiologi

Luka bakar dapat dibagi menjadi tiga zona. Pusat terjadinya kerusakan maksimal adalah zona koagulasi. Kehilangan jaringan pada zona ini bersifat irreversibel akibat koagulasi protein. Zona ini dikelilingi oleh zona stasis, yang ditandai dengan berkurangnya perfusi jaringan. Jaringan pada zona ini berpotensi untuk dapat diselamatkan. Namun pada keadaan yang buruk, seperti hipotensi berkepanjangan, infeksi, atau edema, dapat mengubah zona ini menjadi kehilangan jaringan total. Lingkaran yang terluar merupakan zona hiperemia. Zona ini memiliki perfusi jaringan yang cukup tinggi dan dapat pulih sempurna (Cuschieri *et al.*, 2003).



Gambar 2.1 Zona luka bakar (Cuschieri *et al.*, 2003).

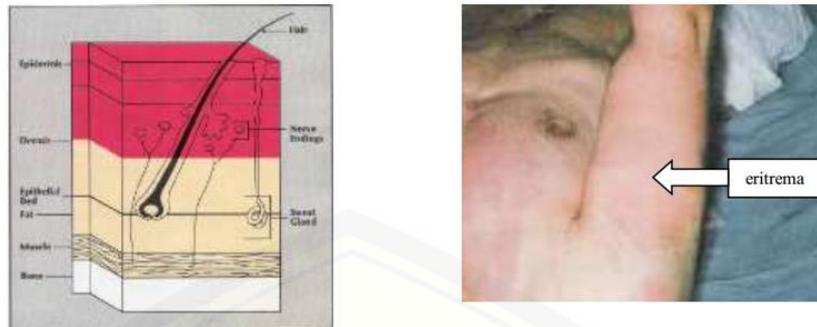
Munculnya sitokin dan mediator inflamasi lain pada daerah yang cedera menyebabkan efek sistemik jika luka bakar mencapai 30%. Respon inflamasi sistemik tampak pada kardiovaskular, respirasi, metabolisme, dan perubahan imunologi. Perubahan pada kardiovaskular dapat terjadi peningkatan permeabilitas kapiler, vasokonstriksi, dan penurunan kontraksi *miokardium*. Perubahan pada respirasi, yaitu bronkokonstriksi, dan pada keadaan yang parah dapat menyebabkan *adult respiratory distress syndrome* (ARDS). Efek pada metabolisme, yaitu peningkatan *basal metabolis rate* dan *splachnic hypoperfusion* (Cuschieri *et al.*, 2003).

2.1.3 Klasifikasi Derajat

Luka bakar diklasifikasikan berdasarkan kedalaman luka dan jaringan yang terkena, sebagai berikut.

a. Derajat satu (epidermis)

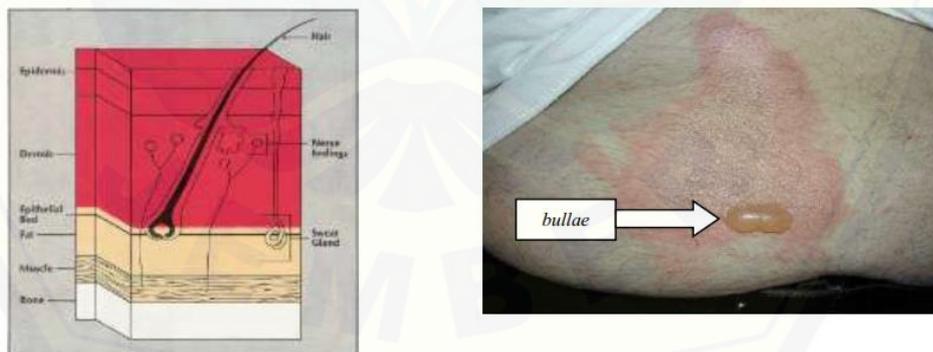
Luka derajat satu hanya mengenai epidermis luar dan tampak sebagai daerah hiperemia dan eritema (Sabiston, 2009). Dirasakan nyeri dan edema di kulit minimal pada derajat ini karena jaringan yang terlibat minimal sehingga fungsi proteksi kulit masih baik. Gejala dapat membaik dalam 48-72 jam, serta dalam 5-10 hari epidermis yang rusak akan mengelupas dan tidak berbekas (Doherty, 2010).



Gambar 2.2 Gambar skematis kedalaman dan klinis luka bakar derajat I. Kulit intak, kemerahan (eritema), tidak ada bula, nyeri (Hidayat, 2013).

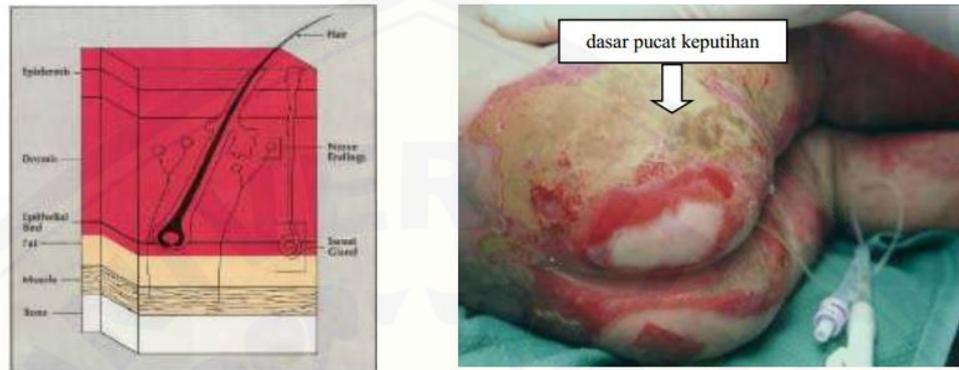
b. Derajat dua (*partial thickness*)

Luka derajat dua mengenai lapisan epidermis yang lebih dalam dan sebagian dermis serta disertai lepuh dan/atau edema dan basah (Sabiston, 2009). Luka bakar derajat dibagi menjadi derajat IIA (superfisial) dan IIB (profunda). Derajat IIA (superfisial) memiliki karakteristik terbentuk bula, sangat nyeri, dan akan sembuh dengan bekas minimal dalam 10-14 hari.



Gambar 2.3 Gambar skematis kedalaman dan klinis luka bakar derajat IIA. Luka dengan dasar kemerahan, ada bula, dan sangat nyeri (Hidayat, 2013)

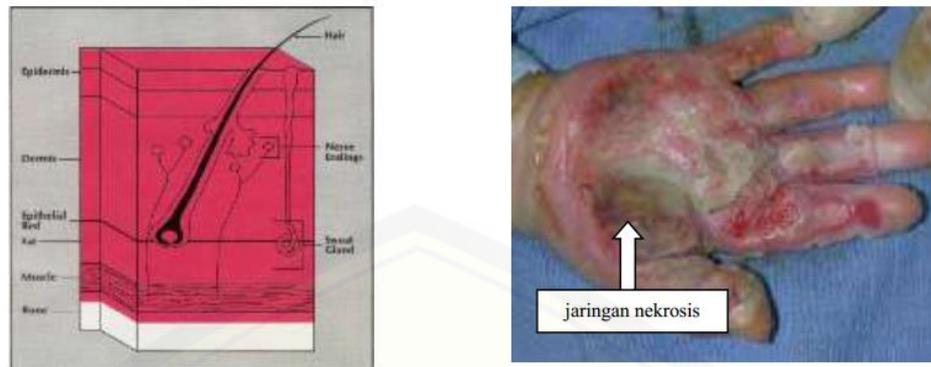
Luka bakar derajat IIB (*profunda*) memiliki karakteristik kemerahan atau lapisan putih dengan lapisan dermis yang sedikit dan kerusakan kelenjar keringat dan folikel rambut, serta waktu yang diperlukan untuk sembuh lebih lama, yaitu 4-8 minggu (Doherty, 2010).



Gambar 2.4 Gambar skematis kedalaman dan klinis luka bakar derajat IIB. Luka dengan dasar keputihan, ada bula, dan nyeri minimal (Hidayat, 2013)

c. Derajat tiga (*full thickness*)

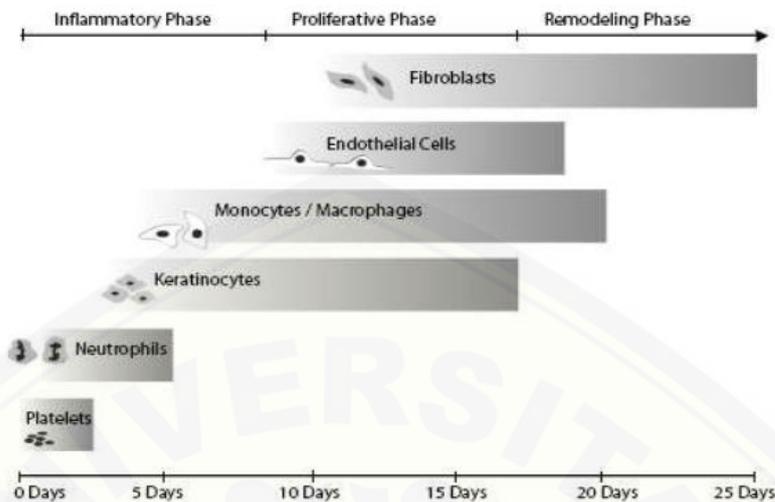
Luka derajat tiga mengenai semua lapisan epidermis dan dermis serta biasanya tampak sebagai luka kering dengan vena koagulasi yang terbayang melalui permukaan kulit (Sabiston, 2009). Luka bakar tampak putih, kering, dapat pula kecoklatan atau hitam, hilangnya sensasi di kulit yang trauma akibat rusaknya ujung saraf sensorik, dan menurunnya pengisian kapiler. Hal tersebut karena kerusakan terjadi pada seluruh jaringan dermis dan reepitelisasi tidak terjadi, selain itu akan timbul eskar akibat koagulasi protein dermis dan epidermis (Doherty, 2010).



Gambar 2.5 Gambar skematis kedalaman dan klinis luka bakar derajat III. Luka dengan dasar kehitaman, kulit nekrosis, dan tidak terasa nyeri (Hidayat, 2013).

2.1.4 Penyembuhan Luka Bakar

Tiga fase dalam proses penyembuhan luka, yaitu fase inflamasi, proliferasi dan *remodelling*. Setiap fase penyembuhan tersebut terdapat satu jenis sel khusus yang mendominasi. Fase awal yakni fase inflamasi dimulai segera setelah terjadinya suatu cedera, dengan tujuan untuk menyingkirkan jaringan mati dan mencegah infeksi. Fase proliferasi yang kemudian terjadi menyeimbangkan pembentukan jaringan parut dan regenerasi jaringan. Fase yang paling akhir merupakan fase terpanjang dan hingga saat ini merupakan fase yang paling sedikit dipahami, yaitu fase *remodelling* yang bertujuan untuk memaksimalkan kekuatan dan integritas struktural dari luka (Hidayat, 2013).



Gambar 2.6 Fase penyembuhan luka, waktu dan sel karakteristik (Hidayat, 2013).

Fase inflamasi dimulai segera setelah cedera sampai hari ke-5 pasca cedera. Komponen jaringan yang mengalami cedera mengaktifasi jalur koagulasi ekstrinsik dan mencegah perdarahan lebih lanjut. *Clot* terutama terdiri dari untaian fibrin, sel-sel seperti eritrosit dan trombosit, serta protein *extra cellular matrix* seperti fibronectin, vitronektin, dan trombospondin. Selain mencegah kehilangan darah, *clot* berfungsi sebagai pertahanan invasi mikroba dan media sementara untuk sel-sel inflamasi (Thiruvoth, 2015).

Pembuluh darah berdilatasi karena efek kaskade koagulasi. Bradikinin, C3a, dan C5a meningkatkan permeabilitas vaskuler dan menarik neutrofil serta monosit menuju luka (Thiruvoth, 2015). C3a dan C5a juga menstimulasi sel mast dalam jaringan ikat untuk menghasilkan serotonin dan histamin yang meningkatkan permeabilitas vaskuler sehingga terjadi eksudasi cairan, penyebukan sel radang disertai vasodilatasi setempat yang menyebabkan pembengkakan. Leukosit bermigrasi pada pembuluh darah yang berdilatasi kemudian mengeluarkan enzim hidrolitik yang membantu mencerna mikroorganisme, debris, dan benda asing pada luka (Adrianto, 2003).

Monosit menjadi sel inflamasi dominan pada luka selama 2 sampai hari. Monosit kemudian berdiferensiasi menjadi makrofag. Makrofag berfungsi

mengeliminasi neutrofil yang mengalami apoptosis dan sel-sel lain yang mati. Makrofag juga memproduksi sitokin dan berbagai *growth factor* seperti TGF- β , TGF- α , *basic FGF* (bFGF), VEGF dan PDGF (Hidayat, 2013). *Growth factor* inilah yang akan mengaktivasi dan menstimulasi *endothelial cell*, fibroblas, dan keratinosit lalu memungkinkan terjadinya penyembuhan luka dengan proliferasi sel, sintesis *extra cellular matrix* (ECM), dan induksi angiogenesis (Thiruvoth, 2015). Akhir dari fase inflamasi mulai terbentuk jaringan granulasi yang berwarna kemerahan, lunak dan granuler. Jaringan granulasi adalah suatu jaringan kaya vaskuler, berumur pendek, kaya fibroblas, kapiler dan sel radang tetapi tidak mengandung ujung saraf sedangkan pembentukan kolagen pada fase ini masih sedikit (Hidayat, 2013).

Fase proliferasi berlangsung mulai pada hari ke2 dan biasanya berakhir pada minggu ke-3 pasca cedera. Fase ini tumpang tindih dengan fase inflamasi. Fase proliferasi dimulai dengan degradasi fibrin dan platelet kemudian terjadi pembentukan jaringan granulasi yang berisi fibroblas dan sel endotel. Enzim seperti *serine*, *cysteine*, dan MMP disekresikan untuk memfasilitasi migrasi sel. Hal utama yang terjadi pada fase ini, yaitu influks fibroblas, deposisi ECM, angiogenesis, dan reepitelisasi (Thiruvoth, 2015).

Jaringan granulasi kaya akan pembuluh darah, makrofag, fibroblas, hyaluronic acid, dan kolagen. Pembentukan pembuluh darah melalui proses angiogenesis terjadi selama proses pembentukan jaringan granulasi. Faktor-faktor yang menstimulasi terjadinya angiogenesis seperti VEGF, basic FGF, dan angiopoietin1 diproduksi oleh fibroblas dan makrofag (Thiruvoth, 2015). Pembentukan pembuluh darah baru dan jaringan granulasi merupakan tanda penting fase proliferasi karena ketiadaannya pembuluh darah baru dan atau jaringan granulasi merupakan tanda dari gangguan penyembuhan luka (Hidayat, 2013).

Fibroblas merupakan sel kunci pada fase ini dan menjadi sel dominan pada 3-5 hari setelah cedera. PDGF dan TGF- β yang dilepaskan makrofag dan sel mast menstimulasi aktivasi fibroblas. Fibroblas berproliferasi dan memproduksi protein matriks seperti fibronectin, hyaluronis acid, kolagen, dan proteoglikan

yang merupakan komponen dari ECM. Matriks fibrin secara bertahap digantikan oleh kolagen tipe III. Setidaknya terdapat 28 tipe kolagen yang telah diketahui. Sebagian besar tipe kolagen pada ECM disintesis oleh fibroblas dan sebagian lainnya disintesis oleh keratinosit (Thiruvoth, 2015).

Hal yang menarik dari fase proliferasi ini adalah bahwa pada suatu titik tertentu, seluruh proses yang telah dijabarkan di atas harus dihentikan. Fibroblas segera menghilang setelah matriks kolagen mengisi kavitas luka dan pembentukan neovaskular menurun melalui proses apoptosis. Kegagalan regulasi pada tahap inilah yang hingga saat ini dianggap sebagai penyebab terjadinya kelainan fibrosis seperti jaringan parut hipertrofik (Hidayat, 2013).

Fase ketiga dan terakhir adalah fase *remodelling*. Jaringan baru yang terbentuk disusun sedemikian rupa seperti jaringan asalnya pada fase ini. Fase maturasi ini berlangsung mulai hari ke-21 hingga sekitar 1 tahun yang dimulai segera setelah kavitas luka terisi oleh jaringan granulasi dan proses reepitelialisasi usai. Perubahan yang terjadi adalah penurunan kepadatan sel dan vaskularisasi, pembuangan matriks temporer yang berlebihan dan penataan serat kolagen sepanjang garis luka untuk meningkatkan kekuatan jaringan baru. Kontraksi dari luka dan *remodelling* kolagen terjadi pada fase ini. Kontraksi luka terjadi akibat aktivitas miofibroblas, yakni fibroblas yang mengandung komponen mikrofilamen aktin intraselular (Hidayat, 2013).

Keseimbangan metabolisme kolagen merupakan fungsi dari aktivitas MMP. Kolagen tipe III pada fase ini secara bertahap digantikan oleh kolagen tipe I dengan bantuan *matrix metalloproteinase* (MMP) yang disekresi oleh fibroblas, makrofag dan sel endotel. Kolagen yang berlebihan didegradasi oleh enzim kolagenase dan kemudian diserap. Hasil akhir dari fase ini berupa jaringan parut yang pucat, tipis, lemas dan mudah digerakkan dari dasarnya (Hidayat, 2013).

2.1.5 Terapi Luka Bakar

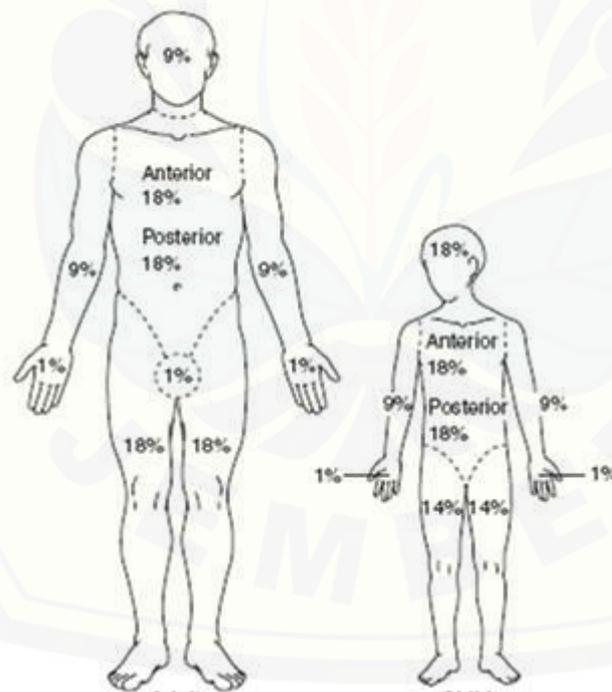
a. Resusitasi Awal

Tahap awal yang harus dilakukan yaitu pemeriksaan *airway, breathing, circulation, disability*, dan *exposure* atau yang sering kita sebut ABCDE.

Manajemen *airway* merupakan prioritas utama, terutama pada pasien yang dicurigai mengalami trauma inhalasi. Manajemen *breathing* dapat dilakukan dengan pemberian oksigen terutama untuk gangguan pernafasan akibat asap. Manajemen *circulation* dilakukan dengan resusitasi cairan dengan kristaloid, pengontrolan cairan dengan pemasangan kateter, serta akses vaskuler di vena perifer besar. Manajemen *disability* untuk memeriksa kesadaran pasien dan manajemen *exposure* untuk mencari apakah terdapat trauma lain. Perlu diperhatikan untuk mencegah hipotermia pada pasien (Puspita, 2015).

b. Penentuan Kedalaman dan Luas Luka Bakar

Penentuan luas luka bakar sangat mempengaruhi terapi yang akan diberikan. Penentuan luas luka bakar menggunakan rumus *rule of nine* seperti dijelaskan pada Gambar 2.7 berikut.



Gambar 2.7 Estimasi luas luka bakar menggunakan rumus *rule of nine*. Telapak tangan dihitung sebesar 1% sehingga didapat estimasi luas pada gambar (Sabiston, 2009)

Penentuan kedalaman luka penting dilakukan sebelum membuat keputusan mengenai cara perawatan. Luka dengan kedalaman sedang sering sulit diperkirakan potensi kesembuhannya. Perawatan luka dengan kerusakan pada sebagian kedalaman kulit tidak boleh lebih dari 3 minggu (Sabiston, 2009).

c. Perawatan Lokal Luka Bakar

Prioritas pada perawatan luka prinsipnya yaitu mengatasi perdarahan (hemostasis), mengeluarkan benda asing yang dapat menyebabkan infeksi, melepaskan jaringan yang mengalami devitalisasi, menyediakan temperatur, kelembaban, dan pH yang optimal untuk sel-sel yang berperan dalam proses penyembuhan, meningkatkan pembentukan jaringan granulasi dan epitelisasi, memberikan antimikroba, dan melindungi luka dari trauma lebih lanjut serta terhadap masuknya mikroorganisme patogen. Pasien luka bakar memerlukan obat lokalis yang mengandung bahan seperti antimikroba, anti inflamasi, antioksidan, dan memberikan kelembaban pada luka (Morison, 2004).

Luka membutuhkan perawatan anti bakteri seperti krim yang dibuat khusus untuk luka bakar yaitu krim *silver sulfadiazine*, mafenid asetat, krim gentamisin, atau salep providon-yodium. Pilihan lain yaitu menggunakan membrana amniotik manusia sebagai balutan biologi pada luka bakar kecil yang bersih. Namun, jenis ini memerlukan sistem penyemaian dan penyimpanan yang mungkin tidak tersedia di semua rumah sakit (Sabiston, 2009).

Obat topikal yang dipakai di pusat-pusat pelayan kesehatan yaitu krim *silver sulfadiazine* 1%. Krim tersebut mengandung zat aktif *silver* dan *sulfadiazine* kadar 1% dengan bahan dasar atau zat pembawa berbentuk krim yang bersifat hidrofilik. Zat aktif tersebut bersifat bakteriostatik dan memiliki spektrum luas terhadap bakteri gram positif dan gram negatif (Adrianto, 2003). Tetapi komponen aktifnya hanya sedikit larut dalam air sehingga kurang dapat menembus eskar luka bakar dengan kedalaman seluruh kulit. Sebaiknya krim ini hanya digunakan pada luka bakar yang tidak terkontaminasi (Sabiston, 2012). Cara penggunaannya yang dianjurkan yaitu dioleskan setebal 2-4 mm di permukaan luka, kemudian diulang tiap 12-24 jam, tidak menimbulkan rasa nyeri,

tidak meninggalkan bekas berwarna, dan efektif bila bekas krim sebelumnya dibersihkan terlebih dahulu (Adrianto, 2003). Krim ini dapat dioleskan tanpa balutan pada luka bakar yang luas sehingga memungkinkan pengawasan terhadap adanya pertumbuhan bakteri pada luka (Sabiston, 2012).

Obat topikal lain yang banyak beredar di masyarakat dan mudah didapatkan yaitu *Bioplacenton*. *Bioplacenton* merupakan obat topikal berbentuk gel yang dikemas dalam tube. *Bioplacenton* memiliki kandungan neomisin sulfat 0,5% dan ekstrak plasenta *ex bovine* 10% (Nur, 2017). Cara penggunaan obat ini yaitu dengan dioleskan secukupnya secara merata pada luka setiap hari (Dewi, 2010).

Bioplacenton merupakan ekstrak plasenta khusus yang mengandung stimulator biogenik yang berpengaruh merangsang proses metabolisme sel sehingga regenerasi sel fibroblas pada proses penyembuhan luka dapat terstimulasi. Hal tersebut telah dibuktikan secara *in vitro* maupun *in vivo* (MIMS, 2016). Penggunaan ekstrak plasenta dalam penyembuhan luka normal maupun luka yang terinfeksi telah terbukti secara klinis dan telah lama digunakan di berbagai negara untuk kepentingan kosmetik dan penyembuhan luka (Chakraborty dan Bhattacharyya, 2012).

Neomisin sulfat adalah antibiotik topikal yang berpotensi melawan banyak strain gram negatif dan gram positif. Neomisin tidak dapat dihancurkan oleh eksudat maupun produk pertumbuhan bakteri. Kombinasi tersebut memiliki efek antiinflamasi, antioksidan, pelembab, antibakteri, dan kaya akan materi pembentuk kolagen sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka (Nur, 2017). Namun, obat *Bioplacenton* dapat menyebabkan iritasi pada kulit yang ditandai dengan bintik- bintik merah pada kulit penggunaan secara topikal (Burhanudin, 2014).

Setelah diberikan obat topikal maka dilakukan penutupan luka. Penutupan luka secara lembab yang bersifat permeabel bagi oksigen dan uap air serta oklusif terhadap bakteri dan air menciptakan lingkungan yang mengandur oksigen dan uap air sehingga luka akan lebih cepat sembuh. Penutupan luka yang mempertahankan kelembaban akan mempertahankan sel makrofag tetap hidup

sehingga dapat memproduksi *growth factor* (PDGF, FGF, EGF) yang dapat menstimulasi proliferasi fibroblas, keratinosit, dan endotel (Novriansyah, 2008).

Penutupan luka hidrokoloid merupakan suatu lembaran polimer hidrokoloid yang membentuk lapisan pada permukaan luka. Penutup luka hidrokoloid terdiri atas beberapa bentuk diantaranya fibrous dan bentuk lembaran (*sheet*). Hidrokoloid akan meningkatkan autolisis debridemen dan menstimulasi angiogenesis. Hidrokoloid *sheet* merupakan penutup luka oklusif, cocok untuk menutup luka yang bersih, luka yang mengandung jaringan granulasi dan luka yang nekrotik dengan kandungan eksudat rendah. Rata-rata balutan diganti setiap 3-5 hari tetapi juga bisa dipertahankan hingga 7 hari (Novriansyah, 2008).

Intervensi operatif diindikasikan segera pada luka bakar dalam yaitu derajat II dan derajat III. Luka bakar dermis dalam tidak berubah menjadi luka bakar dalam jika diberi antimikrobal topikal tetapi sembuh selama berminggu-minggu. Eksisi eskar pada hari pertama setelah kejadian dapat menurunkan sitokin proinflamasi. Makin cepat eksisi dilakukan, jumlah sitokin proinflamasi lebih rendah dan proses inflamasi setelah luka bakar menjadi lebih baik. Eksisi dini dapat dilakukan pada pasien usia tua secara aman, menurunkan lama rawat dan angka sepsis. Tatalaksana operatif juga efektif mengurangi nyeri. Eksisi pada luka bakar dapat meningkatkan hasil kosmetik dan fungsi, dan lebih cepat mengembalikan pasien ke lingkungan normal (Lumbuun dan Wardhana, 2017).

2.2 Bayam

2.2.1 Definisi

Tanaman bayam termasuk dalam kingdom *Plantae*, divisi *Tracheophyta*, kelas *Magnoliopsida*, ordo *Caryophyllales*, famili *Amaranthaceae*, genus *Amaranthus* L. Bayam cabut merupakan spesies *Amaranthus tricolor*. Bayam yang dijual di pasaran dan biasa dikonsumsi sebagai sayuran dikenal dengan nama bayam cabut atau bayam sekul. Terdapat tiga varietas bayam yang termasuk dalam *Amaranthus tricolor*, yaitu bayam hijau biasa, bayam merah dan bayam putih. Taksonomi bayam cabut sebagai berikut (Dalimartha, 2006).

2.2.2 Morfologi

Morfologi daun tanaman bayam spesies *Amaranthus tricolor* dapat dilihat dari bangun daun, tepi daun, pangkal daun, ujung daun, tulang daun, permukaan atas, permukaan bawah, warna, duduk daun, rumus daun dan jenis daunnya. Bangun daun bayam spesies ini adalah bulat/ oval dengan tepi daun rata serta pangkal dan ujung daun yang tumpul. Bayam *Amaranthus tricolor* memiliki tulang daun menyirip dengan permukaan atas dan bawah licin. Warna daun adalah hijau dengan duduk daun menyebar dan rumus daunnya adalah $1/3$. Jenis daun spesies *Amaranthus tricolor* adalah daun tunggal (Sugiono, 2017).

Spesies *Amaranthus tricolor*, menurut morfologi batangnya, dapat dilihat dari bentuk, permukaan, percabangan, dan arah tumbuh batangnya. Bentuk batang bayam jenis ini adalah perdu tegak dengan permukaan batang yang halus. *Amaranthus tricolor* memiliki arah tumbuh batangnya ke atas serta percabangan jenis monodial (Sugiono, 2017).

Bayam dengan spesies *Amaranthus tricolor* dapat diidentifikasi pula melalui sistem perakarannya. Morfologi akar bayam ini adalah akar tunggang yang memiliki akar jenis serabut di bagian atasnya (Sugiono, 2017).



Gambar 2.8 *Amaranthus tricolor*, bayam cabut jenis bayam hijau yang biasa dikonsumsi (Rukmana, 2010).

2.2.3 Kandungan dan Fungsi

Bayam mengandung asam amino seperti arginin dan glutamin yang berguna dalam proses penyembuhan luka. Arginin merupakan asam amino esensial yang memiliki peran penting pada penyembuhan luka karena keterkaitannya dengan produksi produk inflamasi dan fibroblas (Sipahi, 2013). Sementara, glutamin merupakan “*situational essential amino acid*” yang digunakan fibroblas sebagai sumber energi utama untuk proliferasi, karena itu ia memiliki peran yang sangat penting pada proses penyembuhan luka dan pengurangan inflamasi. Sebuah studi menyebutkan bahwa glutamin secara tidak langsung meningkatkan sintesis kolagen dengan meningkatkan level transkripsi. Studi tersebut juga menunjukkan bahwa suplementasi glutamin dapat mempercepat penyembuhan luka (Rahati *et al.*, 2015).

Bayam mengandung senyawa yang dapat berperan sebagai bakteriosida pada penyembuhan luka. *Linoleic acid* berperan sebagai bakteriosida dan membentuk mediator inflamasi yang sangat bermanfaat untuk proses penyembuhan luka. Pada sebuah studi diobservasi bahwa *linoleic acid* dapat menginhibisi pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan mengubah sintesis

protein, dinding sel, asam nukleat, dan membran sel selama pembelahan (Magalhães *et al.*, 2008).

Kandungan *lechitin* dan vitamin C pada bayam bermanfaat pada pembentukan jaringan granulasi dan kelembaban luka. *Lechitin* bermanfaat pada proses penyembuhan luka dengan memberi kelembaban pada luka (Magalhães *et al.*, 2008). Bayam juga kaya akan vitamin C yang merupakan antioksidan dan dapat meningkatkan pembentukan jaringan granulasi (jaringan *fibrovaskular* yang terdiri atas fibroblas, kolagen, dan pembuluh darah) yang menunjukkan dimulainya reaksi penyembuhan luka (Chiricozzi *et al.*, 2013).

2.3 Kitosan

Kitosan merupakan polisakarida yang terdiri dari *glucosamine* (gln) dan *n-acetylglucosamine* (GlcNAc) serta bersifat nontoksik, biokompatibel, dan biodegradabel. Zat ini menyerupai berbagai glikosaminoglikan yang didistribusikan ke seluruh tubuh manusia. Polisakarida tersebut memiliki sifat *biodegradable*, yang terdegradasi perlahan oleh *lysozymes*, *chitinase*, dan *chitosanase* ke dalam *oligomer* yang secara signifikan mengaktifkan proses penyembuhan luka (Chhabra *et al.*, 2016).

Kitosan berperan penting dalam penyembuhan luka. Kitosan yang menyerupai glikosaminoglikan sangat penting untuk morfologi sel, diferensiasi sel, dan dapat menyediakan lingkungan mikro yang sesuai untuk penyembuhan luka dan proliferasi seluler. Polisakarida kationik alami ini berperilaku seperti matriks ekstraselular dan alat bantu dalam pertumbuhan jaringan, memulai proliferasi sel fibroblas, serta merangsang sintesis kolagen (Chhabra *et al.*, 2016). Kitosan juga memiliki sifat antimikroba terhadap berbagai bakteri, jamur, dan *algae* sehingga dapat mencegah infeksi pada luka. Kitosan memiliki faktor-faktor antimikroba intrinsik dan ekstrinsik seperti berat molekul, DDA (Derajat Deasetilasi), kekuatan ionik dan pH (Nguyen *et al.*, 2014).

Kitosan dan derivatnya telah lama digunakan sebagai obat topikal untuk perawatan luka. Penelitian menunjukkan suplementasi kitosan pada perawatan luka dapat mempercepat proses penyembukannya. Hal ini karena kitosan memiliki

peran hemostatik, antimikroba, dan stimulasi penyembuhan luka (Nguyen *et al.*, 2014).

2.4 Kolagen

Kolagen merupakan unsur utama dalam *extracellular matrix* (ECM) yang menyediakan bahan sinyal kimia dan mekanik yang efeknya saling tergantung. Bahan sinyal kimia bisa berasal dari unsur kimia komponen ECM atau disediakan oleh sitokin dan *growth factor* yang tersimpan dalam ECM dan akan dilepaskan dalam kondisi tertentu. Akhir dari proses ini yaitu degradasi ECM sehingga sel dapat bermigrasi melalui hal tersebut (Elgharably *et al.*, 2014).

Kolagen adalah protein yang paling melimpah di tubuh. Sedikitnya terdapat 12 tipe kolagen yang berhasil diidentifikasi walaupun hanya beberapa tipe saja yang diketahui fungsinya. Kolagen yang ada pada kulit yaitu kolagen tipe I, II, III, dan IV (Goodman, 1998). Kolagen tipe IV merupakan kolagen jenis *network-forming* yang membentuk jaringan dengan molekul lain di lamina basalis. Berbeda dengan kolagen tipe lain yang tersusun membentuk fibril, kolagen tipe IV ini tersusun membentuk lembaran. Kolagen tipe ini berperan dalam proliferasi sel, migrasi sel, dan diferensiasi sel (Petitclerc, 1999).

Kolagen memiliki beberapa sifat menguntungkan, yaitu efek homeostasis, antigenitas rendah, biokompatibilitas yang baik, dan kekuatan mekanik yang tinggi pada jaringan lunak (Walters dan Stegemann, 2014). Kolagen adalah substrat pelengkap yang sangat baik untuk sel, yang bisa mengenali dan mengikat protein melalui reseptor integrin. Sel tidak hanya menempel pada kolagen tetapi bisa juga mendegradasinya dengan mensekresikan enzim dan zat tertentu untuk mensintesis kolagen baru melalui produksi intraselular dan ekspor ke ruang ekstraselular. Melalui hal ini, sel menghapus, merombak, dan mengganti kolagen (Kanta, 2015).

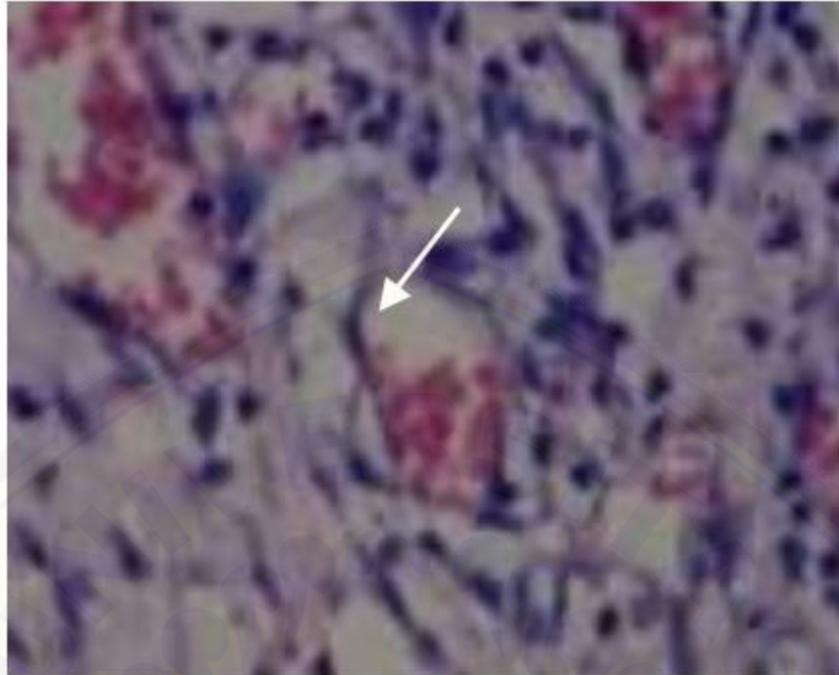
Proses tersebut penting pada homeostasis fibroblas dan miofibroblas yang merupakan sel yang terlibat dalam penyembuhan berbagai jaringan. Memproduksi kolagen menjadi fungsi utama fibroblas kemudian matriks secara bertahap diganti dengan kolagen ECM. Morfogenesis, jaringan *remodelling*, dan perbaikan

jaringan semuanya membutuhkan target membran interstisial dan *basement* kolagen untuk memungkinkan pertumbuhan organ dan migrasi sel (Kanta, 2015).

Dressing kolagen mendukung pembentukan jaringan granulasi dengan meningkatkan kontraksi selular, diferensiasi, dan aktivasi seluler untuk memberi mendukung struktural. Namun, aktivitas enzim proteolitik yang berlebihan pada luka kronis mengancam penutupan luka dengan menurunkan protein ECM dan protein bioaktif seperti faktor pertumbuhan. Aplikasi klinis produk *collagen-based* membantu mengelola proteolisis berlebihan di tempat luka yang mengalami penyembuhan (Elgharably *et al.*, 2014).

2.5 Fibroblas

Fibroblas berasal dari derivat mesenkim primitif. Fibroblas memiliki sitoplasma dengan inti sel berbentuk elips dengan satu sampai dua anak inti sel. Fibroblas banyak mengandung *rough endoplasmic reticulum* dan aparatus golgi yang merupakan karakter sel dengan aktifitas biosintesis yang tinggi (Hidayat, 2013). Fibroblas ditemukan pada lapisan dermis kulit seperti terlihat pada Gambar 2.9 berikut.



Fibroblas ditemukan pada tepi- tepi serat extracellular matrix dengan bentuk silinder dan warna keunguan.

Gambar 2.9 Fibroblas pada lapisan dermis kulit

Bentuk spesifik fibroblas adalah miofibroblas yang merupakan sumber penyokong kekuatan kontraksi dan berperan penting serta efisien untuk penutupan luka. Fibrosit sebagai bentuk inaktif fibroblas diinduksi oleh makrofag menjadi fibroblas pada penyembuhan luka. Fibroblas terakumulasi di daerah luka melalui angiogenesis antara 2 sampai 5 hari pasca cedera. Jumlah fibroblas mencapai puncaknya sekitar 1 minggu pasca trauma dan merupakan sel dominan pada minggu pertama fase penyembuhan luka (Falanga, 2004).

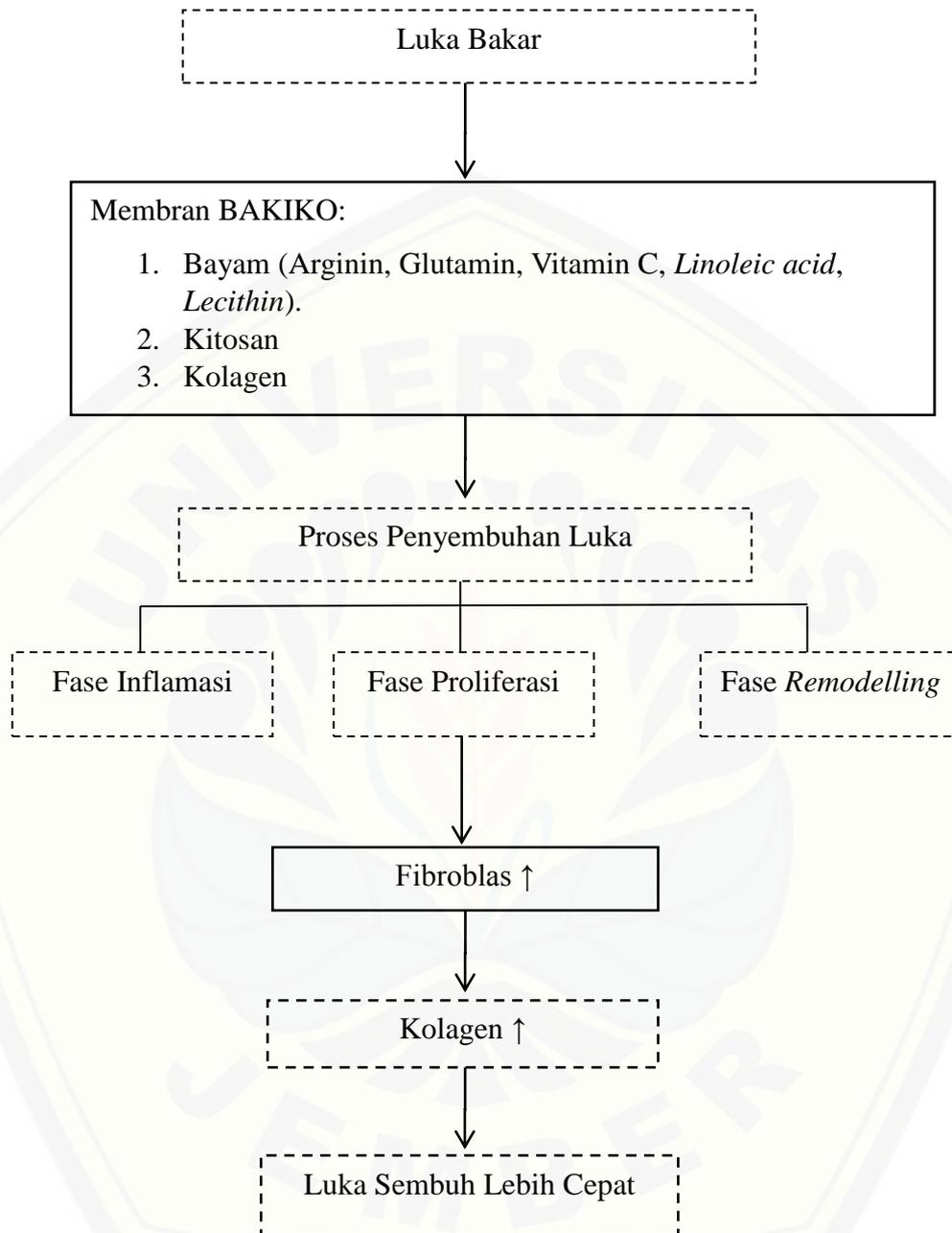
Fibroblas adalah sel yang mensintesis matriks ekstraseluler dan kolagen yang berperan penting dalam penyembuhan luka. Fibroblas berperan secara aktif dalam sintesis protein yang menjadi materi dasar untuk pembentukan bahan antar sel yang berbentuk maupun yang *amorf*. Fibroblas memproduksi kolagen, glikosaminoglikan, serat elastin dan glikoprotein yang membentuk matriks ekstraseluler (Falanga, 2004). Fibroblas merupakan sumber utama dari protein *Extra Cellular Matrix* terutama bentuk kolagen dan fibronectin yang merupakan

bentuk granulasi jaringan dan berperan dalam penyediaan integritas struktural pada luka (Destri *et al.*, 2017).

Pada pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin* fibroblas umumnya berkelompok membentuk suatu garis sejajar dengan sitoplasma berwarna kemerahan dan dilihat pada pembesaran 400x (Hidayat, 2013).

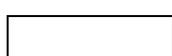


2.6 Kerangka Konseptual Penelitian



Keterangan:

 : Bukan alur yang diteliti

 : Alur yang diteliti

Gambar 2.10 Grafik alur kerangka koseptual penelitian

Senyawa arginin, glutamin, vitamin C, *linoleic acid*, dan *lechitin* pada bayam memiliki peran penting pada penyembuhan luka dengan berperan dalam meningkatkan pembentukan jaringan granulasi, meningkatkan proliferasi sel fibroblas dan menstimulasi sintesis kolagen. Kitosan berperan dalam peningkatan proliferasi sel fibroblas dan sintesis kolagen. Suplementasi kolagen dibutuhkan sejak awal penyembuhan luka karena kolagen merupakan unsur penting dalam ECM yang memiliki efek homeostasis, antigenitas rendah, biokompatibilitas yang baik, dan kekuatan mekanik yang tinggi pada jaringan lunak.

Peningkatan proliferasi fibroblas yang diinduksi oleh senyawa dan bahan yang telah disebutkan di atas memungkinkan adanya peningkatan jumlah fibroblas selama fase proliferasi yang dimulai pada hari ke-3 dan akan mencapai puncak pada hari ke-7 tetapi akan menurun jumlahnya pada hari ke-21 karena memasuki fase *remodelling*. Meningkatnya proliferasi fibroblas, maka sintesis *matrix extra cellular* dan kolagen juga akan meningkat sehingga fase proliferasi dapat terselesaikan lebih cepat dan masuk pada fase *remodelling* selanjutnya penyembuhan luka akan lebih cepat terjadi.

2.7 Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah maka hipotesis penelitian ini adalah terdapat efek pemberian membran Bakiko terhadap jumlah sel fibroblas pada luka bakar derajat II.

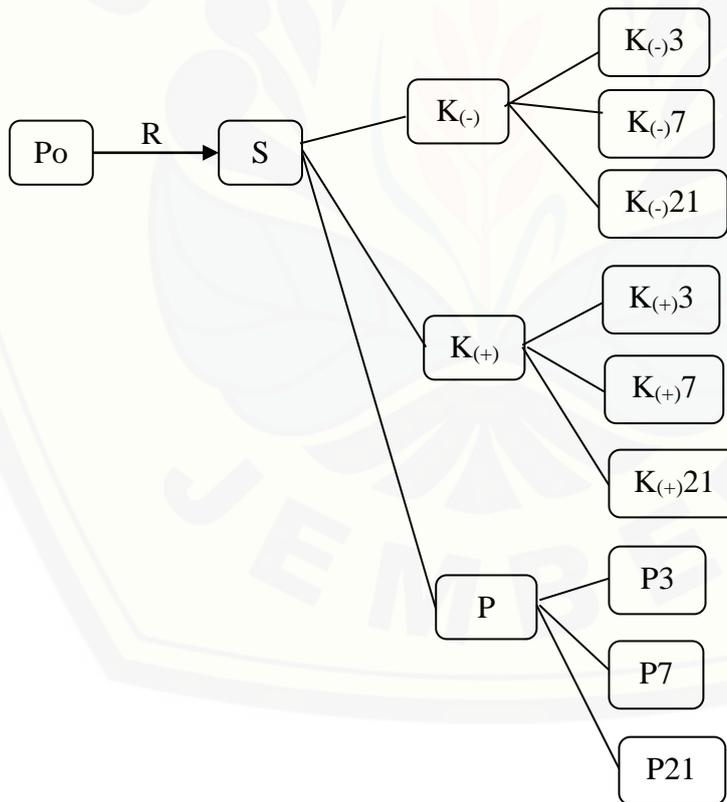
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *true experimental laboratories* dengan rancangan *post test only control group*. Rancangan penelitian ini menggunakan kelompok perlakuan dan kelompok kontrol, diklasifikasikan sebagai penelitian *true experimental laboratories* (Syahdrajat, 2017).

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Post Test Only Control Group Design*. Rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1 berikut.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan :

- Po : Tikus putih (*Rattus novergicus*) galur wistar jantan
- R : Randomisasi sampel
- S : Sampel
- K₍₋₎ : Kelompok kontrol negatif dengan pemberian luka bakar
- K₍₊₎ : Kelompok kontrol positif dengan pemberian luka bakar dan *Bioplacenton*
- P : Kelompok dengan pemberian luka bakar dan membran bakiko
- K₍₋₎₃ : Kelompok kontrol negatif yang akan diobservasi gambaran histopatologisnya pada hari ke-3
- K₍₋₎₇ : Kelompok kontrol negatif yang akan diobservasi gambaran histopatologisnya pada hari ke-7
- K₍₋₎₂₁ : Kelompok kontrol negatif yang akan diobservasi gambaran histopatologisnya pada hari ke-21
- K₍₊₎₃ : Kelompok kontrol positif yang akan diobservasi gambaran histopatologisnya pada hari ke-3
- K₍₊₎₇ : Kelompok kontrol positif yang akan diobservasi gambaran histopatologisnya pada hari ke-7
- K₍₊₎₂₁ : Kelompok kontrol positif yang akan diobservasi gambaran histopatologisnya pada hari ke-21
- P3 : Kelompok perlakuan yang akan diobservasi gambaran histopatologisnya pada hari ke-3
- P7 : Kelompok perlakuan yang akan diobservasi gambaran histopatologisnya pada hari ke-7
- P21 : Kelompok perlakuan yang akan diobservasi gambaran histopatologisnya pada hari ke-21

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di beberapa tempat. Pembuatan ekstrak bayam (*Amaranthus sp.*) dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Teknologi Hasil Pangan Politeknik Negeri Jember. Pembuatan sediaan membran dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Tempat perlakuan hewan coba dilakukan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran

Gigi Universitas Jember. Pembuatan preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pengamatan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pelaksanaan penelitian ini dimulai pada bulan April hingga bulan September 2017.

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 100 tikus putih (*Rattus novvergicus*) galur wistar jantan.

3.4.2 Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus novvergicus*) galur wistar dengan kriteria inklusi meliputi tikus yang berkelamin jantan, berumur 2-3 bulan dengan berat badan 150-200 gram, sehat, dan memiliki kulit yang normal. Kriteria eksklusi meliputi tikus yang mati saat proses adaptasi hewan coba maupun saat penelitian berlangsung, tikus yang sakit dengan penampakan rambut kusam, rontok atau botak, aktivitas kurang atau tidak aktif, dan keluar eksudat tidak normal dari mata, mulut, anus, atau genital.

3.4.3 Besar sampel

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan rumus Federer, yaitu:

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

$$(r-1)(9-1) \geq 15$$

$$(r-1)8 \geq 15$$

$$r-1 \geq 1,8$$

$$r \geq 2,8 (\pm 3)$$

Huruf t pada rumus tersebut adalah jumlah kelompok dan r adalah banyaknya pengulangan pada setiap kelompok. Jadi sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 3 ekor tikus untuk 9 kelompok sehingga jumlah sampel yang digunakan adalah 27 ekor tikus.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah membran bakiko.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah fibroblas per lapang pandang pada sediaan histopatologi kulit yang diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Pengamatan dilakukan setelah pengambilan jaringan pada hari ke-3, 7, dan 21.

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini yaitu induksi luka bakar derajat II pada kulit punggung binatang coba yang ditandai dengan terbentuknya bula setelah 12 jam dan dasar luka keputihan.

3.6 Definisi Operasional

Definisi operasional untuk variabel terikat, variabel bebas, dan variabel terkontrol pada penelitian ini seperti pada Tabel 3.1 berikut.

Tabel 3.1 Definisi Operasional dan Skala Pengukuran Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Skala Pengukuran	
Terikat	Fibroblas	Sel dari jaringan ikat yang bersifat eosinofilik dengan pewarnaan HE. Sel ini tampak memanjang dengan juluran sitoplasma, inti lonjong dengan kromatin jarang- jarang dan satu atau dua nukleoli. Fibroblas di amati pada lapisan dermis jaringan kulit. Fibroblas dilihat dengan bantuan mikroskop cahaya Olympus DP21 dengan pembesaran 400 kali sebanyak 6 lapang tiap preparat secara <i>zig- zag</i> .	Rasio: Jumlah sel
Bebas	Membran bakiko	Sediaan hidrokolid atau hidrofilik yang diserapkan pada kasa steril yang dibuat dari ekstrak bayam, kitosan dan kolagen sebagai basis gel. Membran tersebut mengandung bayam 43.9 mg, kitosan 0,41 mg, dan kolagen 0,41 mg per 2,5 x 2,5 cm x 1 mm.	Nominal: Pemberian membran Bakiko

3.7 Bahan dan Alat Uji yang Digunakan

3.7.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam proses ekstraksi bayam adalah bayam dan aquades. Untuk membuat membran, diperlukan ekstrak bayam, kitosan, kolagen, asam asetat dan aquades. Untuk uji *in vivo*, dibutuhkan membran bakiko. Pembuatan sampel kulit pemeriksaan histopatologi dibutuhkan aquades dan formalin 10%.

3.7.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari *blender*, kain saringan tahu, *freeze drying machine* untuk proses ekstraksi. Dibutuhkan pisau cukur, logam, spirtus dan penggaris untuk induksi luka bakar. Pembuatan membran membutuhkan alat beaker glass 50 mL, gelas ukur 10 mL, neraca ohaus dan lemari pendingin untuk menyimpan membran. Pemberian membran bakiko

mebutuhkan *hand scoon*. Proses pembuatan preparat histopatologi memerlukan *slide* preparat.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Pemilihan Sampel Tikus

Hewan coba berupa tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *wistar* jantan berusia 2-3 bulan dengan berat badan 150-200 gram, sebanyak 27 ekor yang terbagi dalam sembilan kelompok. Tikus yang dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi.

3.8.2 Proses Adaptasi Tikus

Tikus diadaptasikan selama empat minggu sebelum diberi perlakuan. Satu kandang diberi sekat pembatas dan berisi dua tikus dengan ukuran kandang 38x30x12 sentimeter. Suhu ruangan pemeliharaan sebesar $27^{\circ} \text{C} (\pm 3^{\circ} \text{C})$. Tikus diberi pakan standar dan diberikan air minum secara *ad libitum*.

3.8.3 Ekstraksi Bayam

Bayam (*Amaranthus sp.*) segar diambil daunnya kemudian dicuci menggunakan aquades dan haluskan menggunakan *blender* dengan pelarut aquades perbandingan 1:1. Bayam yang telah dihaluskan kemudian disaring menggunakan kain saring dan diambil hasil ekstraksinya. Proses tersebut dilakukan dalam sehari supaya tidak terjadi pembusukan pada bayam. Pengeringan dilakukan dengan metode *freeze drying* untuk mendapatkan ekstrak bayam kering.

3.8.4 Pembuatan Membran Bakiko

Larutan kolagen dengan konsentrasi 0,41 mg/ml dicampur dengan kitosan dalam 0,5M asam asetat 1:1. Setelah itu, ditambahkan ekstrak bayam 43.9 gram. Membran dibuat dengan menuangkan komposit bayam-kitosan-kolagen ke dalam plat kaca yang didalamnya telah terdapat kasa steril dengan ukuran 2,5 cm x 2,5

cm dan meratakan permukaannya dengan ketebalan ± 1 mm kemudian didiamkan selama 24 jam pada suhu 4°C.

Formula membran bakiko yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

R/	Asam asetat 0,5M	20 ml
	Ekstrak bayam	288 mg
	Larutan kitosan 16mg/ml	1 ml
	Kolagen	16 mg
	Gelatin	1 gr

3.8.5 Tahap perlakuan

a. Induksi Luka Bakar

Hewan coba dibius dengan ketamin 0,1cc intramuskular. Kulit punggung dicukur dan menyeluruh *depilated*. Luka bakar dibuat sebagai luka bakar kontak menggunakan pelat logam berdiameter 2cm yang dipanaskan hingga suhu 105°C kemudian dikontakkan selama 5 detik pada sisi kanan dan kiri punggung tikus.

b. Perawatan Luka

Setelah tikus di induksi luka bakar, tikus diperlakukan sesuai kelompok perlakuannya. Kelompok K₍₊₎ diberi *Bioplacenton* setelah induksi dan kelompok P diberikan membran bakiko). *Bioplacenton* dioleskan setiap hari dan membran bakiko ditempelkan pada luka bakar dengan direkatkan menggunakan *hypafix* dan diganti setiap 3 hari sekali (Kirichenko *et al.*, 2013).

3.8.6 Pengambilan Jaringan Kulit

Hewan coba diterminasi pada hari ke-3, 7, dan 21 dengan jumlah tiga ekor tikus per kelompok tiap kali terminasi. Setelah itu, jaringan kulit yang diberi perlakuan kemudian diambil dan dibuat preparat histopatologi.

3.8.7 Pembuatan Preparat Histopatologi

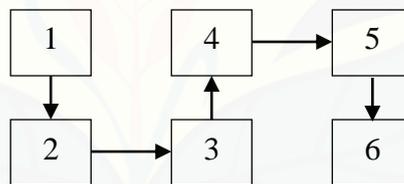
Preparat histopatologi dibuat dengan pewarnaan HE (Hematoksilin Eosin). Proses pembuatan preparat histopatologi sebagai berikut (Ismawaddah, 2012).

1. Fiksasi: merendam jaringan dalam larutan formalin 10% selama minimal 24 jam.
2. Dehidrasi: pengeluaran air dari dalam sel atau organ dengan menggunakan alkohol konsentrasi bertingkat dari rendah ke tinggi. Dimulai dengan alkohol 30%, kemudian 50%, 70%, 80%, 95%, dan alkohol absolut. Jaringan direndam dalam masing- masing alkohol selama kurang lebih 1 – 2 jam.
3. *Clearing*: proses penjernihan jaringan menggunakan bahan- bahan *clearing* yaitu *xylol*.
4. Pencetakan atau *blocking*: menghangatkan cetakan dari bahan *stainles steel* diatas api *bunsen*, lalu ke dalam setiap cetakan dimasukkan jaringan. Sementara itu ditempat lain telah disiapkan parafin cair. Parafin cair tersebut dituangkan ke dalam jaringan sampai seluruh jaringan terendam parafin. Parafin dibiarkan membeku di atas mesin pendingin.
5. *Sectioning*: pengirisan blok parafin yang mengandung jaringan kemudian dipotong menggunakan mesin mikrotom, sebelumnya pisau mikrotom diberihkan dengan kasa/ kertas saring yang telah dibasahi *xylol*. Blok parafin kemudian dipotong dengan mengatur ketebalan berkisar 3 -4 μm , mengambil sayatan dengan menggunakan kuas kemudian potongan tersebut diletakkan di atas permukaan air dalam *waterbath* agar sayatan mengembang dengan baik. Sayatan tersebut kemudian diletakkan pada kaca objek yang telah diolesi *meyer egg albumin*. Kaca objek dengan jaringan di atasnya dikeringkan di atas *hot plate* kemudian dimasukkan ke dalam *oven* bersuhu 30-35°C sampai preparat siap diwarnai.
6. *Staining*: pewarnaan preparat yang akan diwarnai diletakkan pada rak khusus lalu dicelupkan secara berurutan ke dalam *xylol* selama 2 menit kemudian dipindahkan ke dalam *xylol* ke-2 selama 2 menit, dipindah ke alkohol absolut ke-1 selama 1 menit dan alkohol absolut ke-2 selama 1 menit. Alkohol 95% ke-1 dan ke-2 masing masing 1 menit lalu dicuci dengan air hangat selama 10

menit dan dimasukkan ke dalam larutan *meyer* hematoksin selama 15 menit lalu cuci kembali dengan air. Masukkan ke dalam eosin selama 15 detik sampai 2 menit lalu cuci kembali dengan air. Masukkan dalam alkohol 95% 2 bak masing- masing 1 menit lalu dimasukkan ke dalam alkohol absolut 3 bak masing- masing 2 menit dan yang terakhir dalam *xylol* 3 bak masing- masing 2 menit.

7. *Mounting*: penutupan preparat dengan kaca penutup dan diolesi cairan *entellan*.

Pengamatan dilakukan untuk mengamati jumlah fibroblas per lapang pandang pada sediaan histopatologi yang telah dibuat. Sel fibroblas dihitung dengan pembesaran 400 kali. Lapang pandang dipilih dengan metode *zig-zag*. Lapang pandang yang dipilih yaitu lapisan dermis, dimulai pada lapisan papilar dari dermis kemudian turun menuju lapisan retikular dari dermis demikian seterusnya secara *zig-zag* seperti Gambar 3.2 berikut. Perhitungan jumlah fibroblas dilakukan dengan menggunakan aplikasi *imageJ*. Hasil dari perhitungan ini kemudian dirata-rata.

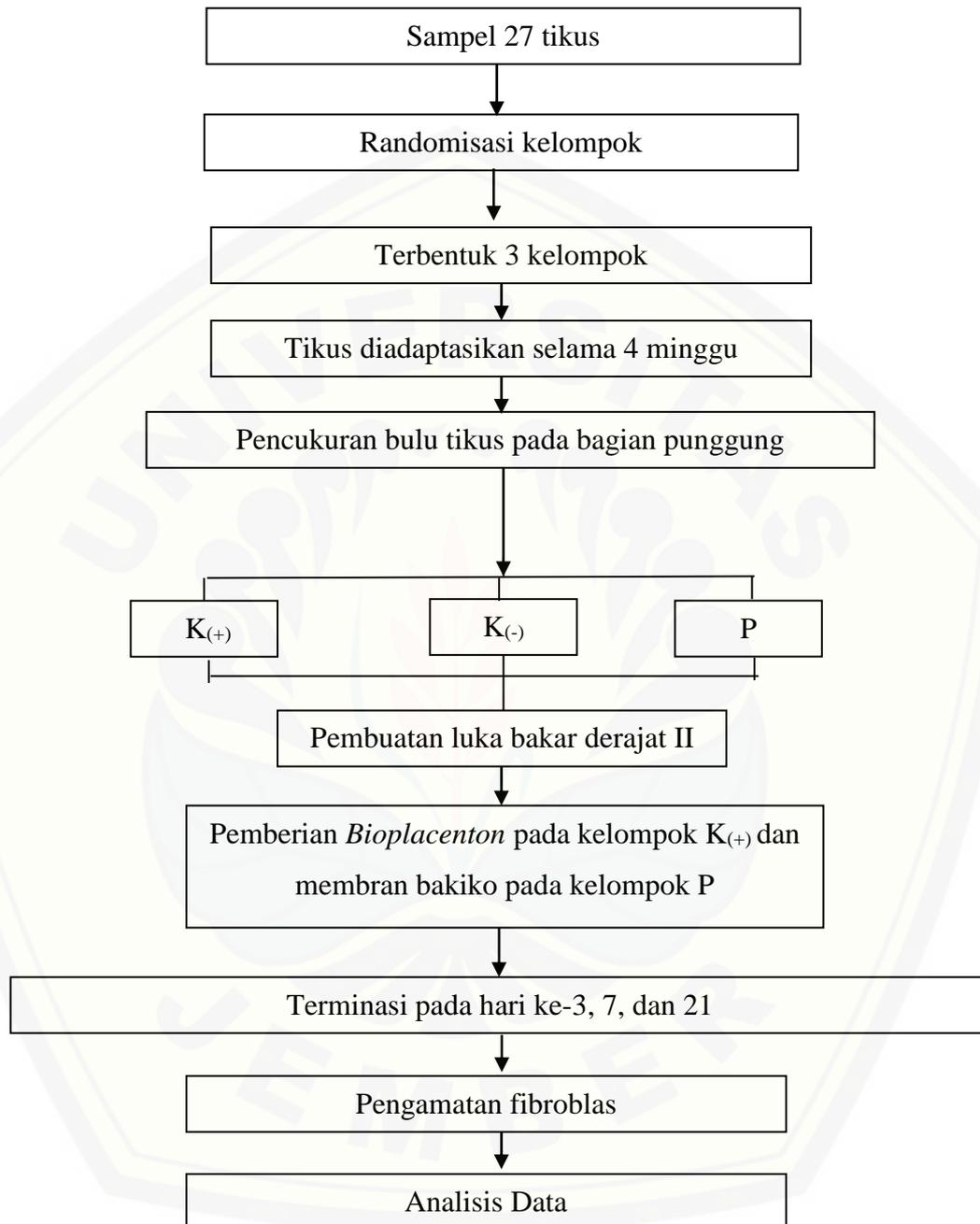


Gambar 3.2 Lapang pandang yang digunakan untuk menghitung

3.9 Analisis Data

Dari hasil pengamatan yang diperoleh, data rata-rata jumlah fibroblas per lapang pandang dianalisis secara statistik dengan menggunakan *Shapiro-Wilk* untuk menguji normalitas data. Jika data normal maka dilanjutkan dengan analisis statistik *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *post-hoc* LSD. Jika data tidak normal dilanjutkan dengan analisis *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *post-hoc* *Mann Whitney*.

3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Skema perlakuan hewan coba

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan sebelumnya, dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat efek pemberian membran Bakiko terhadap jumlah fibroblas pada luka bakar derajat II dengan meningkatkan jumlah sel fibroblas di hari ke-3 dan ke-7 pada fase proliferasi proses penyembuhan luka bakar.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya adalah sebagai berikut:

- a. Menggunakan pewarnaan yang lebih spesifik untuk fibroblas yaitu *Masson's trichrome* atau *Vimentin*.
- b. Menambahkan hari pengamatan untuk mengetahui puncak jumlah fibroblas.
- c. Melakukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis efektif dari membran Bakiko untuk penyembuhan luka bakar.
- d. Melakukan uji klinis agar membran Bakiko dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan luka bakar.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrianto, A. 2003. Perawatan Luka Bakar Derajat II Metode Tertutup: Perbandingan Antara Antimikroba Topikal Silver Sulfadiazin 1% dengan Kombinasi Levertran- Neomisin- Basitrasin. *Tesis*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Burhanudin, F. N. 2014. Uji Efektifitas Formulasi Gel Ekstrak Daun Cermai (*Phyllanthus acidus L.*) Terhadap Lama Kesembuhan Luka Bakar Pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) Jantan. *Skripsi*. Semarang: Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Ngudi Waluyo Semarang.
- Chhabra, P., P. Tyagi, A. Bhatnagar, M. Gaurav, dan A. Kumar. 2016. *Optimization, Characterization, and Efficacy Evaluation of 2% Chitosan Scaffold for Tissue Engineering and Wound Healing*. *J Pharm Bioallied Sci.* 8(4): 300–308.
- Chiricozzi, A., M. S. Chimenti, M. Bavetta, G. Babino, S. Chimenti, dan R. Saraceno R. 2013. Use of Vitamins and Their Derivates in the Treatment of Cutaneous Disorders. *J NutrTher.* (2):59–70.
- Cuschieri, A., P. A. Grace, A. Darzi, N. Borley, dan D. I. Rowey. 2003. *Clinical Surgery*. Second Edition. USA: Blackwell Publishing.
- Dalimartha, S. 2006. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 2. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Destri, C., I. K. Sudiana, dan J. Nugraha. 2017. Potensi *Jatropha multifida* terhadap Jumlah Fibroblas pada Aphthous Ulcer Mukosa Mulut Tikus. *Jurnal Biosains Pascasarjana*. 19(1).
- Dewi, S. P. 2010. Perbedaan Efek Pemberian Lendir Bekicot (*Achatina fulica*) dan Gel *Bioplacenton* terhadap Penyembuhan Luka Bersih pada Tikus Putih. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Doherty, G. M. 2010. *Current Diagnosis and Treatment*. United States: Mc Graw Hill.
- Elgharably, H., K. Ganesh, J. Dickerson, S. Khanna, M. Abas, P. D. Ghatak, S. Dixit, V. Bergdall, S. Roy, dan C. K. Sen. 2014. A Modified Collagen Gel Dressing Promotes Angiogenesis in A Preclinical Swine Model of Chronic Ischemic Wounds. *Wound Healing Society.* (22): 720-729.

- Falanga, V. 2004. *The Chronic Wound: Impaired Healing and Solutions in The Context of Wound Bed Preparation. Blood Cells, Molecules, and Diseases.* 32 (1): 88–94.
- Gangemi, E. N., D. Gregori, P. Berchiolla, E. Zingarelli, M. Cairo, D. Bolero, J. Ganem, R. Capocelli, F. Cuccuru, P. Cassano, D. Risso, dan M. Stella. 2008. Epidemiology and Risk Factors for Pathologic Scarring After Burn Wounds. *Arch Facial Plast Surg.* 10(2):93-102.
- Hidayat, T. S. N. 2013. Peran Topikal Ekstrak Gel Aloe Vera Pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat Dalam Pada Tikus. *Tesis.* Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Ismawaddah, D. 2012. Efek *Repellent* DEET (*Diethyltoluamide*) Per Oral terhadap Perubahan Histopatologi Lambung pada Mencit. *Skripsi.* Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Kanta, J. 2015. *Collagen Matrix as A Tool in Studying Fibroblastic Cell Behavior. Cell Adhesion & Migration.* 9(4): 308- 316.
- Kirichenko, A. K, I. N. Bolshakov, A. E. Ali-Riza, dan A. A. Vlasov. 2013. Morphological Study of Burn Wound Healing with the Use of Collagen-Chitosan Wound Dressing. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 154(5): 692-695.
- Magalhães, M. S. F., F. V. Fechine, R. N. de Macedo, D. L. S. M, C. C. Oliveira, G. A. Brito, M. E. A. de Moraes, dan M. O. de Moraes. 2008. Effect of a Combination of Medium Chain Triglycerides, Linoleic Acid, Soy Lecithin and Vitamins A and E on Wound Healing in Rats. *Acta Cirurgica Brasileira.* 23(3): 262-269.
- Masuoka K, Ishihara M, Asazuma T, Hattori H, Matsui T, Takase B, *et al.* 2005. *The Interaction of Chitosan with Fibroblast Growth Factor-2 and Its Protection from Inactivation. Biomaterials,* 2005; 26 (16): 3277-3284.
- Morison, M. J. 1992. *A Colour Guide to the Nursing Management of Wounds.* Terjemahan oleh A. F. Tyasmono. 2004. *Manajemen Luka.* Jakarta: EGC.
- Nguyen, V. Q., I. M. Kinoda, H. Hattori, S. Nakamura, T. Ono, Y. Miyahira, dan T. Matsui. 2014. Development of Antimicrobial Biomaterials Produced from Chitin-nanofiber Sheet/ Silver Nanoparticle Composites. *Journal of Nanobiotechnology.*
- Novita, M., M. I. Sulaiman, dan S. Yura. 2016. Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Fenol Beberapa Jenis Bayam dan

- Sayuran Lain. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian Unsyiah*, 2016; 1 (1): 935-940.
- Novriansyah, R. 2008. Perbedaan Kepadatan Kolagen di Sekitar Luka Insisi Tikus Wistar yang Dibalut Kasa Konvensional dan Penutup Oklusif Hidrokoloid selama 2 dan 14 Hari. *Tesis*. Semarang: Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Universitas Diponegoro.
- Nur, N. N. 2017. Perbedaan Penyembuhan Luka Sayat Secara Makroskopis Antara Pemberian Topikal Ekstrak Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia dengan Gel *Bioplacenton* pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley*. *Skripsi*. Bandar Lampung: Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
- Ostlie, D. J., D. Juang, P. Aguayo, J. P. Pettiford-Cunningham, E. A. Erkmann, D. E. Rash, S. W. Sharp, R. J. Sharp, dan S. D. St. Peter. 2012. Topical Silver Sulvadiazine Vs Collagenase Ointment for the Treatment of Partial Thickness Burns in Children: A Prospective Randomized Trial. *Elsevier Journal of Pediatric Surgery*. (47): 1204-1207.
- Petitclerc, E., Boutaud, A., Prestayko, A., Xu, J., Sado, Y., Ninomiya, Y., Sarras, M. P., Hudson, B. G., Brooks, P. C. 1999. *New Function for Non-Collagenous Domains of Human Collagen Type IV*. *The Journal of Biological Chemistry*. 275(11): 8051-8061.
- Putri, F. R. dan S. Tasminatun. 2012. Efektivitas Salep Kitosan terhadap Penyembuhan Luka Bakar Kimia pada *Rattus novergicus*. *Mutiara Medika*. 12(1): 24-30.
- Puspitasari, L. 2015. Pengaruh Ekstrak dan Serbuk Mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap Jumlah Makrofag pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat II B pada Tikus Wistar. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Rahati, S., M. Eshraghian, A. Ebrahimi, dan H. Pishva. 2015. Effect of Spinach Aqueous Extract on Wound Healing in Experimental Model Diabetic Rats with Streptozotocin. *J Sci Food Agric*. 2016(96): 2337-2343.
- Rukmana, R. 2010. *Bayam: Bertanam dan Pengolahan Pasca Panen*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sabiston, D. C. 2012. 1987. *Sabiston's Essentials of Surgery*. Terjemahan oleh P. Andrianto dan I. S. Timan. 2012. *Buku Ajar Bedah*. Jakarta: EGC.
- Sezer A. D., Hatipolu F., Cevher E., Ourtan Z., Ba A. L., Akbua J. Chitosan Film Containing Fucoidan as a Wound Dressing for Dermal Burn Healing:

- Preparation and In Vitro/In Vivo Evaluation. *AAPS Pharm Sci Tech.* 2007; 8 (2):39.
- Shahzad, M. N. dan N. Ahmed. 2013. Effectiveness of Aloe Vera Gel Compared with 1% Silver Sulphadiazine Cream as Burn Wound Dressing in Second Degree Burns. *J Pak Med Assoc.* (63); 225-230.
- Silalahi, J. dan C. Surbakti. 2015. Burn Wound Healing Activity of Hydrolyzed Virgin Coconut Oil. *International Journal of PharmTech Research.* 8(1): 67-73.
- Sipahi, S., O. Gungor, M. Gunduz, M. Cilci, M. C. Demirci, dan A. Tamer. 2013. The Effect of Oral Supplementation with A Combination of Beta-Hydroxy-Beta-Methylbutyrate, Arginine, and Glumatine on Wound Healing: A Retrospective Analysis Diabetic Haemodialysis Patients. *Sakarya University Training and Research Hospital.*
- Sugiono, M., 2017. Identifikasi Morfologis Bayam (*Amaranthus sp.*). Laboratorium Agronomi Universitas Jember.
- Syahdrajat, T. 2017. *Panduan Penelitian untuk Skripsi Kedokteran dan Kesehatan.* Jogjakarta: CV Sunrise.
- Walters, B. D. dan J. P. Stegemann. 2014. Strategies for Directing the Structure and Function of 3D Collagen Biomaterials across Length Scales. *Acta Biomater.* 10(4): 1488-1501.
- Wardono, A. *Pengaruh Kitosan Secara Topikal Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Kimiawi pada Kulit Tikus Putih (Rattus Novergicus) Terinduksi Asam Sulfat.* KTI. Program Sarjana Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah. Yogyakarta. 2009.

Lampiran 3.1 Etik Perlakuan Hewan Coba



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
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 : /H25.1.11/KE/2017

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 :

**EFEK PEMBERIAN MEMBRAN BAKIKO (BAYAM-KITOSAN-KOLAGEN)
TERHADAP JUMLAH FIBROBLAS PADA LUKA BAKAR DERAJAT II**

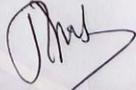
Nama Peneliti Utama : Shofi Iqda Islami
Name of the principal investigator

NIM : 142010101102

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

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

Jember,
Ketua Komisi Etik Penelitian



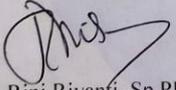
dr. Rini Riyanti, Sp.PK

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

Review Proposal :

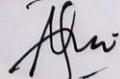
1. Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada buku pedoman etik penelitian kesehatan (Penggunaan hewan coba dengan prinsip 3R : *Reduced, Reused, Redefined*)
2. Mohon diperhatikan kontrol kualitas pembuatan ekstrak bayam-kitosan-kolagen agar didapatkan kadar yang diinginkan.
3. Perlakuan pembuatan luka bakar derajat 2 dilakukan oleh orang yang terampil (dilakukan secara cepat dan tepat agar tidak melukai hewan coba).
4. Mohon diperhatikan oleh peneliti, kemungkinan infeksi yang terjadi, yang dapat menjadi bias pada penelitian ini.
5. Mohon diperhatikan kontrol kualitas pembuatan dan pembacaan preparat histopatologi agar didapat sediaan yang memenuhi syarat pembacaan.
6. Pengamatan Jumlah fibroblas dilakukan oleh orang yang kompeten, minimal oleh 2 orang serta menggunakan metode blinding.
7. Bioplasenton sebagai kontrol (+) perlu dikaji ulang, mohon sertakan sumber ilmiah yang mendukung pemilihan obat tersebut.
8. Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan.

Mengetahui
Ketua Komisi Etik Penelitian


dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Jember, 30 Desember 2017

Reviewer


dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed

Lampiran 3.2 Lembar Determinasi Bayam



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
Jl. Kalimantan Kampus Tegalboto, Jember 68121;
Telp.: (0331) 334054, Fax.: (0331) 338422, e-mail: soedradjad.faperta@unej.ac.id
www.unej.ac.id

Nomor : 039/UN25.1.3/BP/PS.8/2017
Lampiran : 2 (dua) lembar
Hal : Hasil Identifikasi Tumbuhan

19 Juni 2017

Yth. : **Wakil DEKAN I**
Fakultas Kedokteran
Universitas Jember

Menindaklanjuti surat saudara Nomor: 1059/UN25.1.11/LT/2007, tanggal 16 Juni 2017 tentang Permohonan Ijin Determinasi tanaman, maka bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi morfologis 1 (satu) set contoh tanaman yang terdiri dari daun, batang dan akar (terlampir) dalam rangka penyusunan melengkapi data Program Kreativitas Mahasiswa, atas nama:

Nama : **Dita Puspita Damayanti**

N.I.M. : 142010101040

Atas kepercayaannya disampaikan terimakasih.



Ketua,

Ir. R. Soedradjad, M.T.
NIP. 195707181984031001

Tembusan:

1. Dekan Fakultas Pertanian UNEJ (sebagai Laporan)
2. Mahasiswa yang bersangkutan

HASIL IDENTIFIKASI MORFOLOGIS CONTOH TUMBUHAN

1. MORFOLOGI DAUN	
a. Bangun Daun	Bulat/Oval (<i>orbicularis</i>), <i>ovatus</i>
b. Tepi Daun	Rata (<i>integer</i>)
c. Pangkal Daun	Tumpul (<i>obtusus</i>)
d. Ujung Daun	Tumpul (<i>obtusus</i>)
e. Tulang Daun	Menyirip (<i>peminervis</i>)
f. Permukaan Atas	Licin (<i>laevis</i>)
g. Permukaan Bawah	Licin (<i>laevis</i>) berbulu lembut
h. Warna Daun	Hijau
i. Duduk Daun	Menyebar
j. Rumus Daun	1/3
k. Jenis Daun	Tunggal
2. MORFOLOGI BATANG	
a. Bentuk Batang	Perdu tegak
b. Permukaan Batang	Halus
c. Arah Tumbuh	Ke atas
d. Percabangan	Monodial
3. MORFOLOGI AKAR	
Sistem perakaran	Akar tunggang dan memiliki akar serabut di bagian atasnya
4. MORFOLOGI BUNGA	
	Bunga tanaman tidak disertakan sehingga tidak teridentifikasi.
5. MORFOLOGI BUAH	
	Buah tanaman tidak ada
6. MORFOLOGI BIJI	
	Biji tanaman tidak disertakan sehingga tidak teridentifikasi.
7. MODIFIKASI ORGAN	
a. Jenis Modifikasi	Tidak ada
b. Lain-Lain	Tidak ada

Catatan:

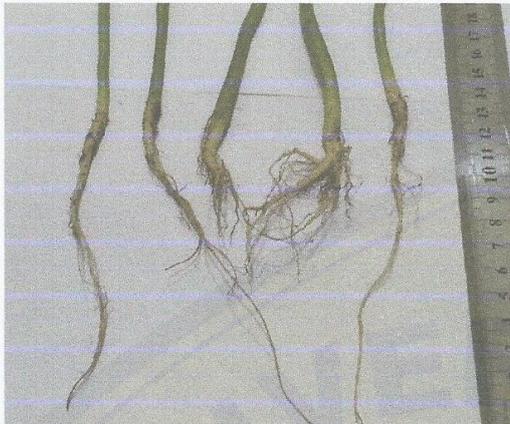
1. Tumbuhan yang diidentifikasi hanya berupa 5 (lima) tanaman lengkap dengan akar, batang dan daunnya, tinggi tanaman antara 17 – 23 cm yang diperkirakan umur 3 (tiga) minggu.
2. Berdasar ciri morfologis yang ada, khususnya pada karakter akar, batang, dan daun, tumbuhan tersebut benar tumbuhan **Bayam Cabut (*Amaranthus tricolor* Linn.) var Giti Hijau (lokal)**

Jember, 19 Juni 2017
Pelaksana Identifikasi
PLP Laboratorium Agronomi,

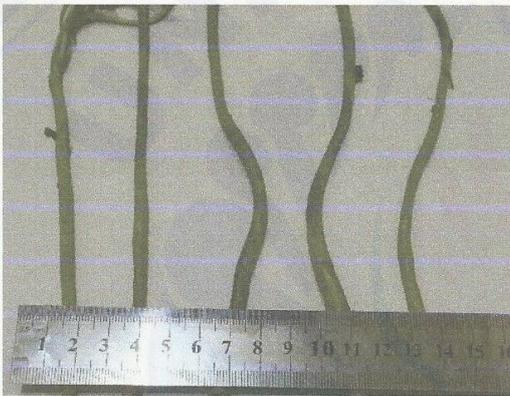


Muhammad Sugiono
NIP. 196712182001121001

Tanaman yang di Identifikasi



Akar Tanaman



Batang Tanaman

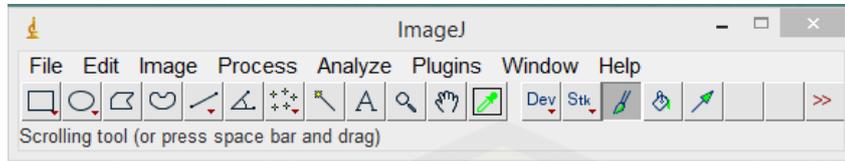
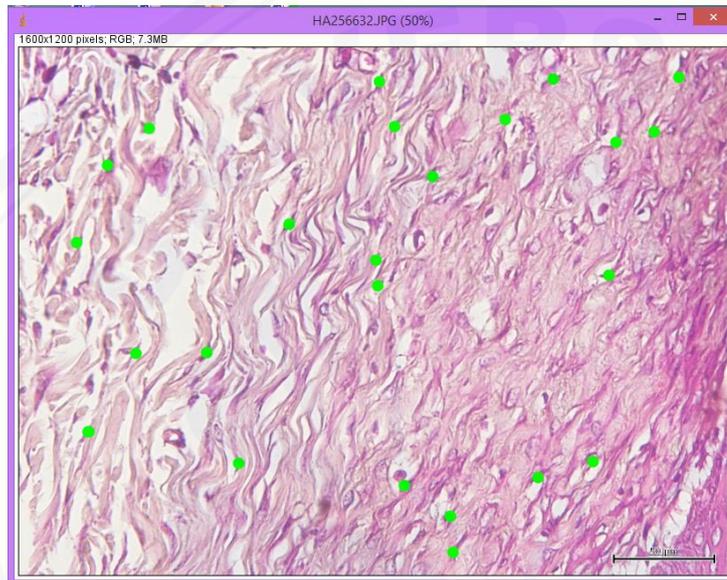


Daun Tanaman

Jember, 19 Juni 2017
Pelaksana Identifikasi
PLP Laboratorium Agronomi,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Muhammad Sugiono'.

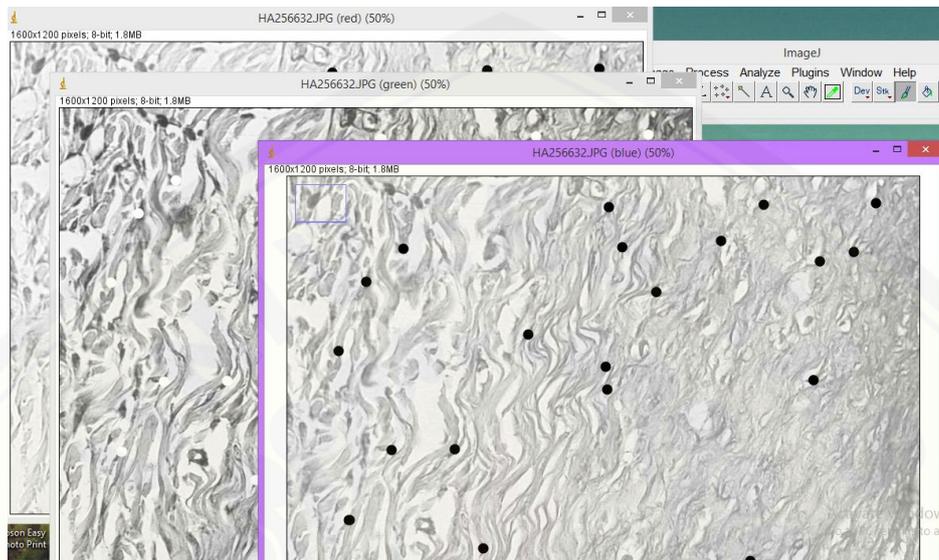
Muhammad Sugiono
NIP. 196712182001121001

Lampiran 3.3 Langkah Perhitungan Sel dengan *Software ImageJ*1. Buka *software ImageJ*2. Klik *file* → *Open*

Sel fibroblas ditandai dengan titik berwarna hijau

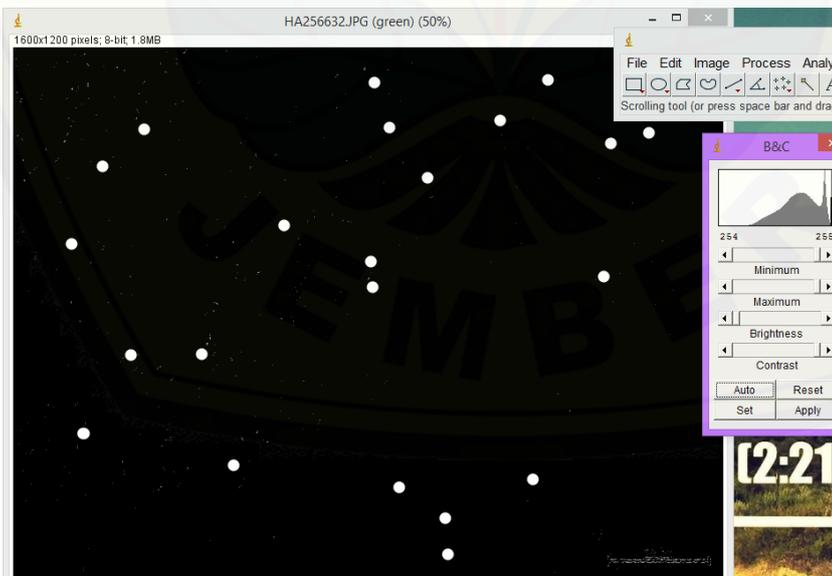
3. Klik *Image* → *Color* → *Split Channels*

Gambar akan terbagi menjadi tiga pengamatan warna (*red*, *blue*, *green*). Karena menandai sel fibroblas dengan titik berwarna hijau, maka gambar *red* dan *blue* bisa ditutup.



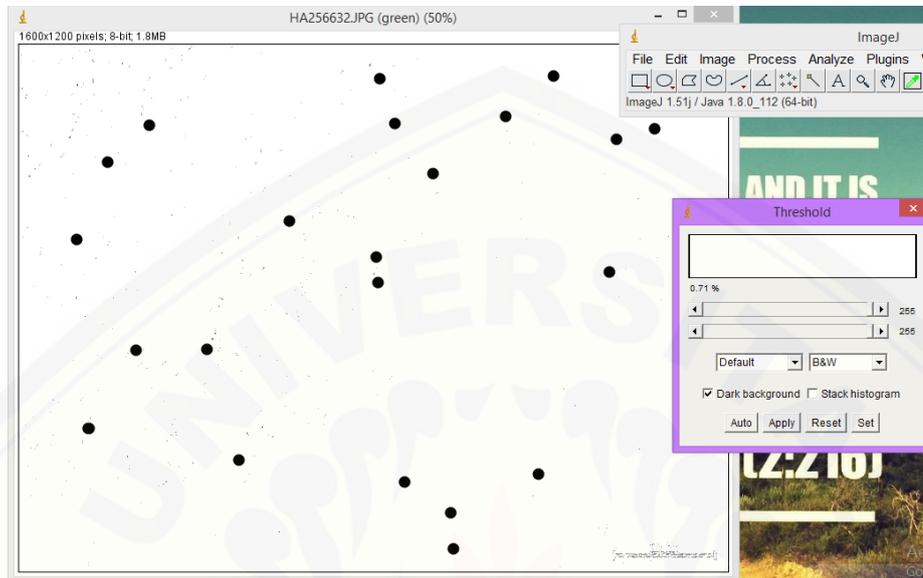
4. Klik *Image* → *Adjust* → *Brightness/Contrast*

Atur hingga hanya titik- titik sel fibroblas yang berwarna putih.

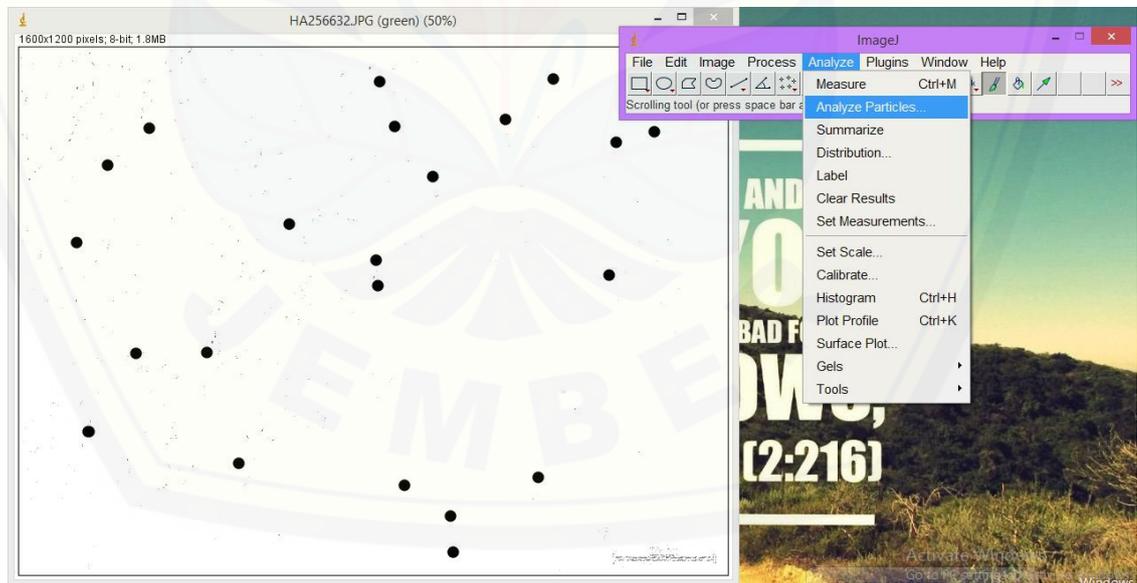


5. Klik *Image* → *Adjust* → *Threshold*

Atur hingga titik- titik fibroblas yang semula putih menjadi hitam dan objek lain putih.

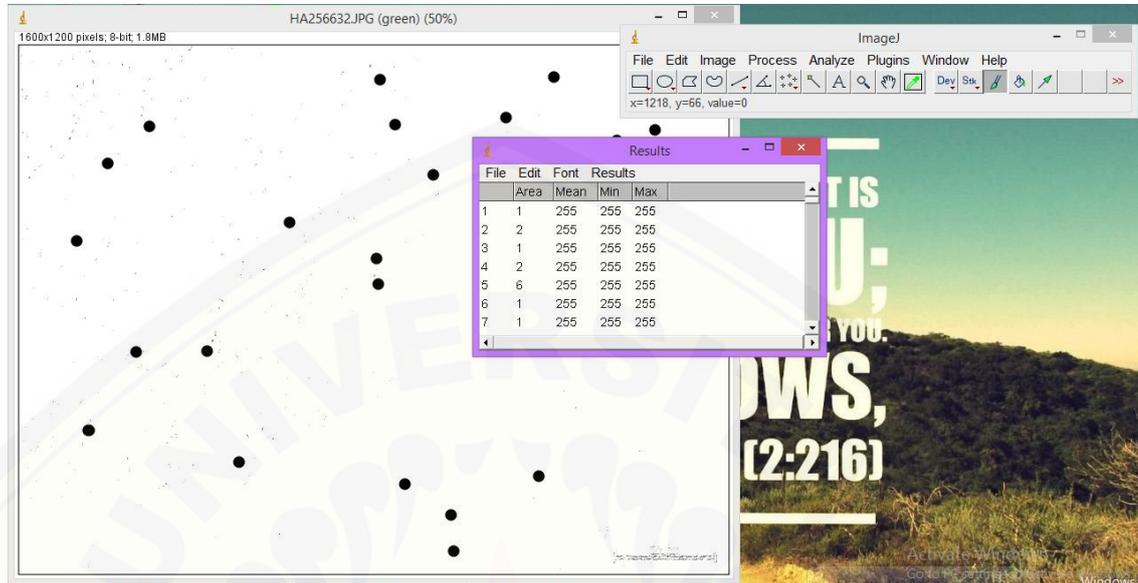


6. Klik *Analyze* → *Analyze Particles*



7. Hasil perhitungan partikel

Hitunglah jumlah partikel dengan area untuk 1 titik (354)



Lampiran 4.1 Data Rata- rata Jumlah Sel Fibroblas per Lapang Pandang

Nama		Hari ke-		
		3	7	21
K+(A)	Kanan	19,17	34	20,33
	Kiri	23,5	50	19,17
K+(B)	Kanan	17,5	45	18,33
	Kiri	17,83	28,83	19,17
K+(C)	Kanan	20,67	20,17	17,83
	Kiri	17	29	21,33
K-(A)	Kanan	8,83	22	20,33
	Kiri	8,83	21	22,83
K-(B)	Kanan	13,33	22,17	19,17
	Kiri	16,5	19,83	21
K-(C)	Kanan	11	2167	23
	Kiri	10,83	22,5	22,17
P(A)	Kanan	13,33	23,67	21,33
	Kiri	17,33	28,5	19,5
P(B)	Kanan	16,17	22,17	22,33
	Kiri	18,17	18,67	19,33
P(C)	Kanan	20	30,83	18,33
	Kiri	17,17	23,5	20,83

Lampiran 4.2 Analisis Data dengan SPSS 16.0

a. Analisis data hari ke-3

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
positifharitiga	.222	6	.200 [*]	.890	6	.318
negatifharitiga	.241	6	.200 [*]	.891	6	.322
perlakuanharitiga	.192	6	.200 [*]	.959	6	.816

a. Lilliefors Significance Correction

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

Test of Homogeneity of Variances

fibroblas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.354	2	15	.708

ANOVA

fibroblas					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	189.427	2	94.714	14.472	.000
Within Groups	98.170	15	6.545		
Total	287.598	17			

Multiple Comparisons

fibroblas

LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol positif	kontrol negatif	7.72500*	1.47701	.000	4.5768	10.8732
	perlakuan	2.25000	1.47701	.148	-.8982	5.3982
kontrol negatif	kontrol positif	-7.72500*	1.47701	.000	-10.8732	-4.5768
	perlakuan	-5.47500*	1.47701	.002	-8.6232	-2.3268
perlakuan	kontrol positif	-2.25000	1.47701	.148	-5.3982	.8982
	kontrol negatif	5.47500*	1.47701	.002	2.3268	8.6232

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

b. Analisis data hari ke-7

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
positifharitujuh	.261	6	.200*	.819	6	.087
negatifharitujuh	.224	6	.200*	.904	6	.395
perlakuanharitujuh	.246	6	.200*	.951	6	.745

a. Lilliefors Significance Correction

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

Test of Homogeneity of Variances

fibroblas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
10.429	2	15	.001

Uji homogenitas setelah transformasi data

Test of Homogeneity of Variances

trn_fibroblas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7.849	2	15	.005

Test Statistics^{a,b}

	fibroblas
Chi-Square	11.248
df	2
Asymp. Sig.	.004

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
kelompok

c. Analisis data hari ke-21

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
positifhariduasatu	.225	6	.200*	.953	6	.765
negatifhariduasatu	.191	6	.200*	.931	6	.585
perlakuanhariduasatu	.200	6	.200*	.968	6	.876

a. Lilliefors Significance Correction

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

Test of Homogeneity of Variances

fibroblas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.274	2	15	.764

ANOVA

fibroblas					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12.693	2	6.347	3.288	.065
Within Groups	28.954	15	1.930		
Total	41.647	17			

Multiple Comparisons

fibroblas

LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol positif	kontrol negatif	-2.05667*	.80213	.022	-3.7664	-.3470
	perlakuan	-.99833	.80213	.232	-2.7080	.7114
kontrol negatif	kontrol positif	2.05667*	.80213	.022	.3470	3.7664
	perlakuan	1.05833	.80213	.207	-.6514	2.7680
perlakuan	kontrol positif	.99833	.80213	.232	-.7114	2.7080
	kontrol negatif	-1.05833	.80213	.207	-2.7680	.6514

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

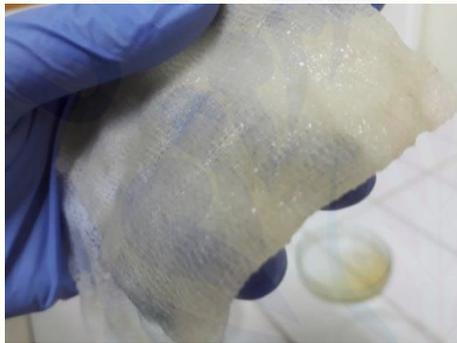
Lampiran 4.3 Dokumentasi Penelitian



Daun bayam dipotong kecil



Proses *Freeze drying* ekstrak bayam



Membran Bakiko



Adaptasi hewan coba



Injeksi ketamine induksi luka bakar



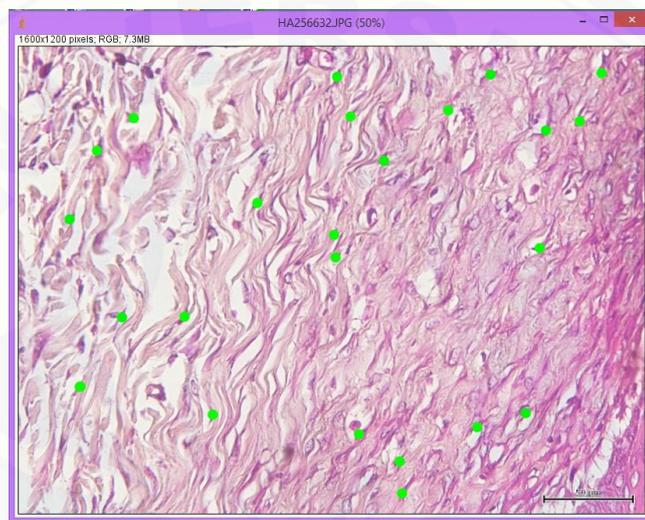
Pencukuran rambut tikus



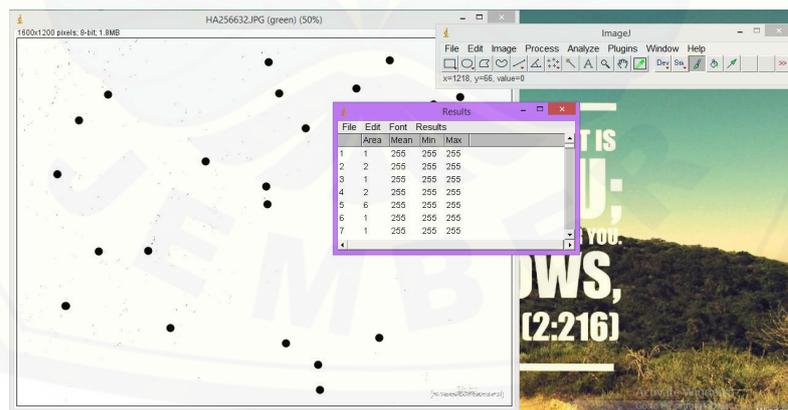
Induksi luka bakar derajat II



Hasil luka bakar derajat II



Perhitungan fibroblas dengan *imageJ*



Perhitungan fibroblas dengan *imageJ*