

KARYA AKHIR

**PENGARUH PEMBERIAN TOPIKAL EKSTRAK KULIT DELIMA PADA
PENYEMBUHAN LUKA *SPLIT THICKNESS* KULIT TIKUS**



Oleh :

Vini Thresianty Irene Prima Tanggo, dr.

Pembimbing :

Iswinarno Doso Saputro, dr., Sp.BP-RE(K)

Agus Santoso Budi, dr., Sp.BP-RE(K)

**DEPARTEMEN / SMF ILMU BEDAH PLASTIK REKONSTRUKSI DAN ESTETIK
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA / RSUD Dr. SOETOMO
SURABAYA**

2013

Prasyarat Keahlian

**PENGARUH PEMBERIAN TOPIKAL EKSTRAK KULIT DELIMA PADA
PENYEMBUHAN LUKA *SPLIT THICKNESS* KULIT TIKUS**

KARYA AKHIR

**Untuk Memperoleh Keahlian
Dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis I**

**PROGRAM STUDI
BEDAH PLASTIK REKONSTRUKSI DAN ESTETIK
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Oleh :

Vini Thresianty Irene Prima Tanggo, dr.

**DEPARTEMEN / SMF ILMU BEDAH PLASTIK REKONSTRUKSI DAN ESTETIK
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA / RSUD Dr. SOETOMO
SURABAYA**

2013

LEMBAR PENGESAHAN

1. Judul Penelitian : Pengaruh Pemberian Topikal Ekstrak Kulit Delima Pada Penyembuhan Luka *Split Thickness* Kulit Tikus
2. Peneliti :
 - a. Nama : Vini Thresianty Irene Prima Tanggo, dr.
 - b. Jabatan : Peserta Program Pendidikan Dokter Spesialis I
 - c. Bagian : Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik

Telah disetujui oleh pembimbing pada tanggal 4 Oktober 2013 serta dipertahankan di depan penguji pada tanggal 11 Oktober 2013 dan dinyatakan memenuhi syarat

Menyetujui,
Pembimbing

Iswinarno Doso Saputro, dr., SpBP-RE(K)
NIP. 19630415 199003 1 016

Agus Santoso Budi, dr., SpBP-RE (K)
NIP. 19640826 200904 1 001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik
Program Pendidikan Dokter Spesialis Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya

Prof. Dr. David S Perdanakusuma, dr., Sp.BP-RE(K)
NIP. 19600305 198901 1 002

Mengetahui,
Ketua Departemen / SMF Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya

Prof. M. Sjaifuddin Noer, dr., Sp.B., Sp.BP-RE(K)
NIP. 19470816 197612 1 001

Ucapan Terima Kasih

Pertama-tama saya ingin mengucapkan puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa sehingga saya dapat menyelesaikan tulisan ini yang berjudul **Pengaruh Pemberian Topikal Ekstrak Kulit Delima Pada Penyembuhan Luka *Split Thickness Kulit Tikus***. Tulisan ini disusun sebagai karya akhir penelitian peserta Program Pendidikan Spesialis I Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

Dalam penyusunan tulisan ini, saya mendapat banyak bantuan berharga dari berbagai pihak. Untuk itu, sepatutnyalah saya mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah memberikan arahan dan bantuan . Saya ingin memberikan penghargaan yang tulus, yaitu :

1. **Prof. Dr. Fasichul Lisan, drs., Apt.**, Rektor Universitas Airlangga, atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo.
2. **Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M.Kes., SpPD, K-EMD, FINASIM**, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo.

3. **Dodo Anondo, dr., M.Ph.**, Direktur RSUD Dr. Soetomo Surabaya atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik di RSUD Dr. Soetomo.
4. **Prof. Dr. Djohansjah Marzoeki, dr., SpB, SpBP-RE(K)**, Guru Besar Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo, Surabaya atas segala arahan dan bimbingan kepada saya selama menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
5. **Prof. M. Sjaifuddin Noer, dr., SpB, SpBP-RE(K)**, Ketua Departemen / SMF Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya atas segala arahan dan bimbingan kepada saya selama menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
6. **Prof. Dr. David Sontani Perdanakusuma, dr., SpBP-RE(K)**, Ketua Program Studi Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang banyak memberikan masukan, arahan, dan bimbingan selama saya menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

7. **Iswinarno Doso Saputro, dr., SpBP-RE(K)**, Sekretaris Program Studi Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan pembimbing saya dalam penelitian ini yang banyak memberi masukan, arahan dan bimbingan kepada saya selama menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
8. **Agus Santoso Budi, dr., SpBP-RE(K)**, staf Departemen / SMF Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan pembimbing saya dalam penelitian ini, atas segala arahan dan bimbingan kepada saya selama menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
9. **Magda Rosalina Hutagalung, dr., SpBP-RE(KKF)**, **Sitti Rizaliyana, dr., SpBP-RE(K)**, **Lobredia Zarasade. dr., SpBP-RE(KKF)**, **Beta Subakti Nata'admadja, dr., SpBP-RE**, **Linda Hariani, dr., SpBP-RE** dan **Indri Lakhsmi Putri, dr., SpBP-RE**, staf Departemen / SMF Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya, atas segala dukungan, arahan, dan bimbingannya kepada saya dalam menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

10. **Budiono, dr., M.Kes.**, atas bimbingannya dalam menyelesaikan analisis statistik penelitian ini.
11. **Willy Sandhika, dr., MSi., Sp.PA(K)** atas bimbingan dan masukannya dalam pembacaan preparat histologis.
12. **Dr. Eddy Herman Tanggo, dr., SpB.Onk.(K)** dan **Mery Soyan, SsP**, kedua orang tua saya terkasih, yang telah begitu banyak berkorban dan senantiasa memberikan dukungan, inspirasi, doa yang tiada putusnya serta cinta kasih kepada saya sehingga saya bisa menyelesaikan pendidikan ini dengan baik.
13. **Prof. Dr. Daniel Sampepajung, dr, SpB.Onk.(K)** dan **Carolina Monica Wilhelmina Poli, dra., MM**, kedua mertua saya terkasih, yang senantiasa memberikan dukungan, inspirasi, doa yang tiada putusnya serta cinta kasih kepada saya sehingga saya bisa menyelesaikan pendidikan ini dengan baik.
14. **Elridho Sampepajung, dr.**, suami saya tercinta, yang senantiasa mendampingi saya dengan penuh pengertian, kesabaran dan kasih sayang serta memberikan semangat, ide dan doa sehingga saya bisa menyelesaikan penelitian dan pendidikan ini
15. **Tristan Mikael Sampepajung** dan **Ivanka Gabriella Sampepajung**, anak-anakku tercinta, yang selalu memberikan kasih sayangnya, semangat dan doa sehingga saya bisa menyelesaikan pendidikan ini.
16. **Vidi Vianney Chrisana Magrit Tanggo, dr., Vici Heliana Ernesta Tanggo, dr.**, dan **Viqi Vincentius Julio Soyan Tanggo**, saudara kandung

saya tercinta, yang senantiasa memberikan dukungan, inspirasi, doa yang tiada putusnya serta cinta kasih kepada saya sehingga bisa menyelesaikan pendidikan ini dengan baik.

17. **Ulfa Elfiah, dr.** dan **Badriatut Dini, dr.**, sahabat dalam suka dan duka dalam menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya. sehingga saya bisa menyelesaikan pendidikan ini dengan baik.

18. **Revita Widya Prasanti, dr., dr., Yudi Siswanto, dr.**, dan **Thomas Eduardus S. W., dr.**, atas kesediaannya meluangkan waktu dan tenaga untuk membantu pelaksanaan penelitian ini.

19. **Arwani**, atas segala kerjasama dan bantuannya kepada saya dalam menjalani pendidikan ini.

20. **Seluruh teman sejawat PPDS I Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga** lainnya, atas bantuan, dukungan serta kerjasamanya dalam menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

21. **Sekretariat dan karyawan Departemen / SMF Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik**, atas kerjasama, dukungan dan bantuan kepada saya selama menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah

Plastik Rekonstruksi dan Estetik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

22. **Seluruh tenaga medis dan paramedis di IRD, OK GBPT, Burn Unit, URJ Bedah Plastik dan IRNA Bedah**, atas segala kerjasama dan bantuannya selama saya menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

23. Semua pihak yang namanya tidak dapat saya sebutkan satu persatu untuk segala dukungannya baik secara langsung maupun tidak langsung.

Saya ingin menyampaikan permohonan maaf yang sebesar-besarnya kepada seluruh pihak atas segala kesalahan dan kekhilafan tingkah laku dan tutur kata selama saya menjalani pendidikan sebagai peserta Program Pendidikan Spesialis I Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

Walaupun tulisan ini disusun sebaik-baiknya, kekurangan di sana-sini masih ada. Oleh karena itu, kritik dan saran sangat diharapkan. Mudah-mudahan tulisan ini bermanfaat bagi kita semua.

Surabaya, Oktober 2013

Peneliti

Abstrak

Effects of Topical Pomegranate Peel Extract on Healing of Split Thickness Wound in Rats

Vini Tanggo, Iswinarno Doso Saputro, Agus Santoso Budi

Department of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery
Airlangga University / Dr. Soetomo General Hospital Surabaya

Background : Split thickness skin grafting (STG) is a frequently used technique for covering soft tissue and skin defects. Donor sites created after harvesting a split-thickness skin graft present an additional wound to manage. The management of the donor site after removing the skin graft is an important patient comfort issue. A suitable wound dressing helps to achieve wound healing and to satisfy patients barring any complications, such as infection or pain. Although numerous dressings have been studied, there is not one perfect dressing for use on the donor site that is easy to use, provides patient comfort, prevents infection, is inexpensive, and promotes faster re-epithelization.

Objective : The aim of this study is to examine the effect of topical pomegranate peel extract application on split thickness wound healing.

Method : A prospective experimental study carried out on 14 male rats at about 3 months old. Two split thickness skin graft donor sites were made on the back in each animal, one control, and the other in which topical pomegranate peel extract was applied. Skin specimens were collected on the 3rd and 10th days from 7 different rats at each period. The sections were stained with hematoxylin-eosin for examining the number of fibroblast and collagen thickness.

Results: Pomegranate peel extract increase the number of fibroblast and collagen thickness in inflammation phase but decrease the number of fibroblast and collagen thickness in proliferative phase meanwhile promotes rapid re-epithelization.

Keywords : *Pomegranate peel extract, skin graft, wound healing, fibroblast, collagen*

DAFTAR ISI

Sampul dalam.....	i
Prasyarat Gelar	ii
Lembar Pengesahan	iii
Ucapan Terima Kasih.....	iv
Abstrak.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan umum.....	5
1.3.2 Tujuan khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan	5
1.4.2 Manfaat bagi pelayanan kesehatan	6

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Luka dan Penyembuhan Luka.....	7
2.2 Delima.....	14
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	18
3.1 Kerangka Konseptual.....	18
3.2 Hipotesis Penelitian	20
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	21
4.1 Rancangan Penelitian.....	21
4.2 Sampel.....	21
4.3 Variabel.....	22
4.3.1 Variabel bebas.....	22
4.3.2 Variabel tergantung.....	22
4.4 Definisi Operasional Variabel.....	22
4.4.1 Ekstrak kulit delima	22
4.4.2 Fibroblas	23
4.4.3 Kolagen.....	24
4.5 Bahan Penelitian	24
4.6 Prosedur Operasional Penelitian	25
4.7 Lokasi Penelitian.....	26
4.8 Alur Penelitian	27
4.9 Analisis dan Penyajian Data	27

4.10	Jadwal Waktu Penelitian.....	28
4.11	Anggaran Penelitian.....	29
BAB 5 HASIL PENELITIAN		30
5.1	Gambaran Klinis Luka	30
5.2	Gambaran Histologis Luka	31
5.2.1	Fibroblas	32
5.2.2	Kolagen.....	33
5.3	Diagram Perbandingan Variabel Penelitian.....	33
5.3.1	Perbandingan jumlah fibroblas	33
5.3.2	Perbandingan ketebalan kolagen	34
5.4	Analisis Hasil Penelitian.....	35
5.4.1	Analisis hasil penelitian perbandingan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.....	35
5.4.2	Analisis hasil penelitian perbandingan pengamatan hari ke-3 dan pengamatan hari ke-10.....	36
BAB 6 PEMBAHASAN		38
BAB 7 PENUTUP.....		44
7.1	Kesimpulan	44
7.2	Saran	44
DAFTAR PUSTAKA		45

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Rerata perbandingan jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen pada pengamatan hari ke-3.....	36
Tabel 2. Rerata perbandingan jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen pada pengamatan hari ke-10.....	36
Tabel 3. Rerata perbandingan jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen pada kelompok luka perlakuan.....	37
Tabel 4. Rerata perbandingan jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen pada kelompok luka kontrol.....	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Fase penyembuhan luka	8
Gambar 2. Fase inflamasi penyembuhan luka	11
Gambar 3. Fase proliferasi penyembuhan luka.....	12
Gambar 4. Fase <i>remodeling</i> penyembuhan luka	13
Gambar 5. Delima	15
Gambar 6. Struktur general komponen phenol utama pada kulit delima.....	16
Gambar 7. Gambaran klinis luka	30
Gambar 8. Gambaran histologis pengamatan hari ke-3	31
Gambar 9. Gambaran histologis pengamatan hari ke-10	32
Gambar 10. Diagram perbandingan rerata kepadatan fibroblas.....	34
Gambar 11. Diagram perbandingan rerata ketebalan kolagen	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 : Hasil penghitungan jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen.....	49
Lampiran 2 : Hasil analisis statistik pada pengamatan hari ke-3	50
Lampiran 3 : Hasil analisis statistik pada pengamatan hari ke-10	51
Lampiran 4 : Hasil analisis statistik pada kelompok kontrol dan perlakuan.....	52
Lampiran 5 : Dokumentasi kegiatan penelitian	54
Lampiran 6 : Sertifikat analisis ekstrak kulit delima	56
Lampiran 7 : Surat keterangan kelaikan etik.....	57

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka adalah suatu trauma fisik yang mengakibatkan terputusnya diskontinuitas kulit. Penyembuhan luka yang baik sangat penting untuk restorasi dari terputusnya jaringan, dalam hal ini kulit, baik secara anatomi maupun secara fungsional (Begum, 2000). Penyembuhan luka merupakan proses yang kompleks, melibatkan interaksi antara sel dan matriksnya sehingga prosesnya dapat berjalan. Adapun proses penyembuhan luka ini terdiri atas tiga fase yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase remodelling (Glynn, 1991; Clark, 1996; Martin, 1996). Melalui berbagai fase yang telah disebutkan di atas, pada proses penyembuhan luka akan terjadi agregasi platelet, pembentukan formasi fibrin, angiogenesis dan reepitelisasi. Proses tersebut dinyatakan komplis apabila telah tersusun atas kolagen dan permukaan luka tertutup oleh epitel (Buffoni dkk, 1993).

Hingga saat ini, penyembuhan luka tetap menjadi masalah yang menantang bagi para klinisi, terutama bagi para ahli bedah plastik yang seringkali menjadi rujukan untuk masalah luka yang kompleks dan berkepanjangan. Banyak penelitian yang ditujukan untuk mencari berbagai macam cara untuk mempercepat penyembuhan luka.

Split Thickness Skin graft (STG) adalah suatu teknik operasi yang sering digunakan untuk menutup defek pada kulit dan jaringan lunak. Aplikasinya cukup luas sehingga tidak hanya digunakan dalam cabang ilmu bedah plastik dan rekonstruksi, melainkan juga pada bidang bedah yang lainnya. Daerah donor

akibat tindakan STG menimbulkan luka baru yang harus diperhatikan pula. Perawatan daerah donor STG berkaitan dengan kenyamanan pasien. Secara teori, *dressing* yang ideal untuk menutup donor STG harus mudah digunakan, memicu reepitelisasi yang cepat, bebas nyeri, bebas infeksi dan tidak mahal (Feldman dkk, 1991). Selain itu yang terpenting adalah memberikan penyembuhan kulit yang baik dengan scar yang minimal (Vanstraelen P, 1992). Daerah donor STG pada umumnya dirawat menggunakan *paraffin gauze* atau tulle kemudian ditutup lagi dengan kasa ataupun *absorbent*, sehingga menjadi sangat tebal dan menghambat mobilisasi, dan tetap menyebabkan timbulnya nyeri pada daerah donor tersebut. Pada saat *dressing* tersebut kering, fibrin dari bed luka akan menyebabkan perlekatan dari *dressing* terhadap luka dan proses reepitelisasi terjadi diantaranya (Feldman dkk, 1991). Meskipun telah dilakukan banyak penelitian dengan berbagai macam *dressing*, hingga saat ini belum juga ditemukan *dressing* yang ideal untuk digunakan pada perawatan luka donor STG yang mudah digunakan, nyaman bagi pasien, mencegah infeksi, tidak mahal dan mempercepat proses reepitelisasi.

Pada studi yang dilakukan oleh Hutchinson tahun 2003 melaporkan hasil kultur positif kuman sebanyak 33% pada donor STG yang dirawat dengan *dressing* hydrocolloid dan sebanyak 86% pada donor STG yang dirawat secara konvensional dengan menggunakan tulle (Hutchinson, 2003). Pada studi yang dilakukan oleh Smith di tahun 2004, dilaporkan bahwa nekrosis jaringan akibat invasi mikroba dan konversi luka donor *split thickness* menjadi luka yang *full thickness* yang disertai terjadinya infeksi dan waktu penyembuhan luka yang

menjadi lebih lama sehingga menjadi scar adalah sebanyak 25% (Smith dkk, 2004).

Oleh karena efek samping yang ditimbulkan lebih sedikit dibandingkan dengan obat sintetis, hampir sebanyak 60% populasi dunia lebih mempercayai penggunaan tanaman sebagai obat. Selain itu produk alami juga telah lama disadari sebagai sumber pengobatan yang efektif. Banyak tanaman yang telah dibuktikan dapat membantu proses penyembuhan luka dalam berbagai penelitian, seperti *Jatropha curcas*, *Aloe barbadensis*, *Centella asiatica* (Villegas dkk, 1997; Shukla dkk, 1999). Berbagai tanaman ini memiliki efek antifungal, antimicrobial, antioksidan, aktivitas antiinflamasi (Turkoglu dkk, 2007).

Punica granatum L. (Punicaceae), yang dikenal sebagai delima, adalah suatu jenis tanaman yang telah digunakan secara medis di Eropa, Indo-China, Kepulauan Filipina, Afrika Utara dan Afrika Selatan. Tanaman ini digunakan sebagai obat tradisional untuk berbagai penyakit seperti *ulcer*, kerusakan hati, gigitan ular dan sebagainya. Kegunaan buahnya adalah sebagai antihelmentik, digunakan untuk disentri dan *ulcer* (Lansky dan Newman, 2007). Tanaman ini juga diketahui memiliki efek antioksidan yang tinggi dan aktivitas antiarterogenik (Aviram dkk, 2008). Penggunaan produk derivat delima secara modern termasuk untuk pengobatan *Acquired Immune Deficiency Syndrome* (AIDS), sebagai tambahan juga untuk terapi pengganti hormon, pengobatan alergi, perlindungan kardiovaskuler, higienis oral, salep mata, dan sebagai terapi tambahan untuk meningkatkan bioavailabilitas radioaktif selama proses diagnostik yang menggunakan *image* (Aviram dkk, 2008; Lansky dan Newman, 2007).

Hanya terdapat sedikit penelitian random yang telah membuktikan efek klinis dari penggunaan tanaman sebagai bahan dalam proses penyembuhan luka. Salah satu penelitian yang pernah dilakukan menyimpulkan bahwa ekstrak kulit delima dapat menstimulasi sintesis pro-kolagen tipe I dan menghambat produksi enzim Matrix Metalloproteinase-1 (MMP-1) yang merupakan enzim pendegradasi kolagen. Secara umum, MMP-1 tidak diekspresikan pada jaringan sehat, namun akan terjadi peningkatan ekspresi pada jaringan yang mengalami kerusakan atau luka dan peradangan. (Aslam dkk, 2005).

Kemampuan dan aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang dimiliki oleh delima disebabkan karena kandungan polyphenolnya yang sangat tinggi, dimana polyphenol yang terkandung dalam delima adalah *ellagic acid*. *Ellagic acid* ini memiliki aktifitas menstimulasi sintesis fibroblas dan mampu menurunkan produksi *Reactive Oxygen Species* (Gill dkk, 2000). Kandungan *ellagic acid* dalam ekstrak kulit delima yang digunakan pada penelitian ini sebesar 40%. Hal ini sesuai dengan standart minimal kandungan *ellagic acid* sebagai bahan aktif yang digunakan untuk standarisasi ekstrak yang berasal dari delima (Jurenka, 2008).

Berdasarkan hal ini dan riwayat penggunaan delima sebagai obat tradisional, penelitian kali ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas ekstrak kulit delima terhadap proses penyembuhan luka *split thickness*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian topikal ekstrak kulit delima dapat meningkatkan jumlah fibroblas pada penyembuhan luka *split thickness* kulit tikus?

2. Apakah pemberian topikal ekstrak kulit delima dapat meningkatkan ketebalan kolagen pada penyembuhan luka *split thickness* kulit tikus?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Membuktikan pengaruh pemberian topikal ekstrak kulit delima pada penyembuhan luka *split thickness* kulit tikus.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Membuktikan pengaruh pemberian topikal ekstrak kulit delima terhadap jumlah fibroblas pada penyembuhan luka *split thickness* kulit tikus.
2. Membuktikan pengaruh pemberian topikal ekstrak kulit delima terhadap ketebalan kolagen pada penyembuhan luka *split thickness* kulit tikus.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan

1. Memperoleh bukti pengaruh pemberian topikal ekstrak kulit delima pada penyembuhan luka *split thickness*.
2. Memberikan dasar teori lebih lanjut untuk pengembangan penelitian pengaruh pemberian ekstrak kulit delima yang berkaitan dengan penyembuhan luka *split thickness* pada manusia.

1.4.2 Manfaat bagi pelayanan kesehatan

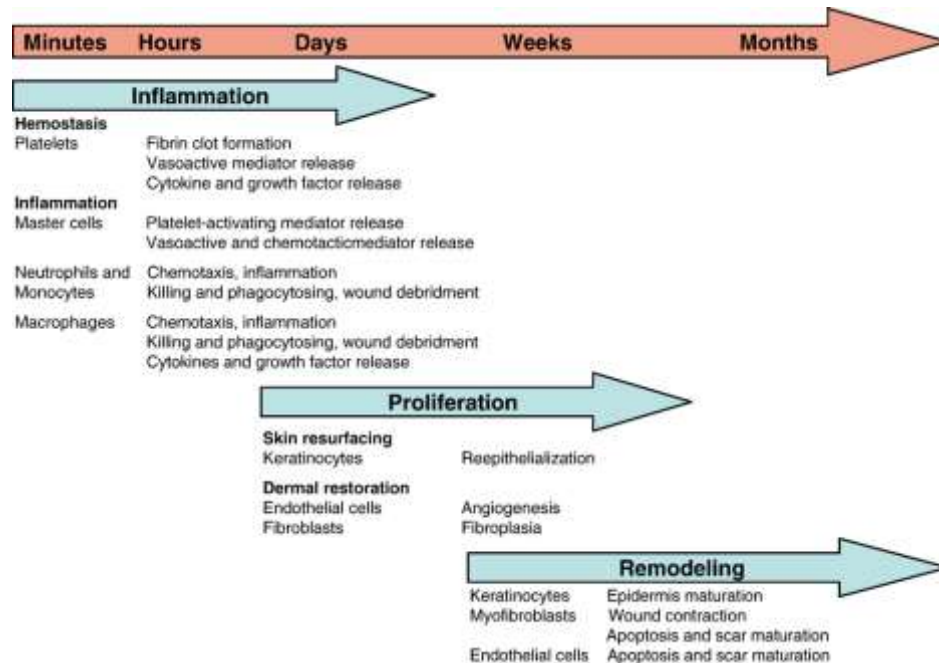
1. Ekstrak kulit delima dapat digunakan secara topikal untuk memacu penyembuhan luka *split thickness*.
2. Ekstrak kulit delima dapat digunakan sebagai alternatif terapi untuk merawat luka donor STG pada manusia.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Luka dan Penyembuhan Luka

Luka adalah diskontinuitas jaringan yang disebabkan oleh trauma dari luar. Penyembuhan luka adalah proses tubuh untuk memperbaiki kerusakan jaringan agar dapat berfungsi kembali. Tubuh berusaha untuk menormalkan kembali semua kondisi abnormal akibat luka dengan proses penyembuhan. Respon tubuh apabila integritas kulit mengalami kerusakan berupa fase yang saling tumpang tindih, tetapi secara biologis dapat dibedakan. Setelah terjadi luka, terjadi fase inflamasi yang bertujuan untuk menghilangkan jaringan nonvital dan mencegah infeksi bakteri invasif. Kemudian, terjadi fase proliferasi dimana terjadi keseimbangan antara pembentukan jaringan parut dan regenerasi jaringan. Pada fase yang terakhir, terjadi fase *remodelling* yang bertujuan untuk memaksimalkan kekuatan dan integritas struktural dari luka (Lorentz dkk, 2006). Pada setiap fase penyembuhan tersebut terdapat satu jenis sel khusus yang mendominasi (Gambar 1).



Gambar 1. Fase penyembuhan luka. Penyembuhan luka pada kulit orang dewasa dan sel yang mendominasi pada masing-masing fase (Diambil dari Gurtner, 2007, *Grabb and Smith's Plastic Surgery*).

1. Fase inflamasi

Fase inflamasi berlangsung sejak terjadinya luka sampai kira-kira hari kelima, dan menjamin terjadinya homeostasis, penghilangan jaringan yang non vital dan mencegah terjadinya infeksi invasif oleh mikroba patogen. Pembuluh darah yang terputus pada luka akan menyebabkan perdarahan dan tubuh akan berusaha menghentikannya dengan vasokonstriksi, pengerutan ujung pembuluh yang putus (retraksi) dan reaksi hemostasis. Hemostasis terjadi karena trombosit yang keluar dari pembuluh darah saling melengket, dan bersama jala fibrin yang terbentuk, membekukan darah yang keluar dari pembuluh darah (Gurtner, 2007).

Platelet tidak hanya berfungsi membentuk bekuan darah tetapi juga menghasilkan beberapa *growth factor* seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF), *insulin-like growth factor-1* (IGF-1), *epidermal growth factor* (EGF),

fibroblast growth factor (FGF), dan *transforming growth factor- β* (TGF- β). *Growth factor* tersebut berfungsi untuk merangsang pertumbuhan dan proliferasi dari sel- luka seperti keratinosit dan fibroblast untuk bermigrasi ke dalam ruang luka (Werner and Grose, 2003).

Berbagai mediator inflamasi yakni prostaglandin, *interleukin-1* (IL-1), *tumor necrosis factor* (TNF), C5a, TGF- β dan produk degradasi bakteri seperti lipopolisakarida (LPS) akan menarik sel netrofil sehingga menginfiltrasi matriks fibrin dan mengisi kavitas luka seperti yang terlihat pada gambar 2. Migrasi netrofil ke luka juga dimungkinkan karena peningkatan permeabilitas kapiler akibat terlepasnya serotonin dan histamin oleh sel mast dan jaringan ikat. Netrofil pada umumnya akan ditemukan pada 2 hari pertama dan berperan penting untuk memfagositosis jaringan mati dan mencegah infeksi. Keberadaan netrofil yang berkepanjangan merupakan penyebab utama terjadinya konversi dari luka akut menjadi luka kronis yang tak kunjung sembuh (Regan dkk, 1991).

Makrofag juga akan mengikuti netrofil menuju luka setelah 48-72 jam dan menjadi sel predominan setelah hari ketiga pasca trauma. Debris dan bakteri akan difagositosis oleh makrofag. Makrofag juga berperan utama memproduksi berbagai *growth factor* yang dibutuhkan dalam produksi matriks ekstraseluler oleh fibroblas dan pembentukan neovaskularisasi. Keberadaan makrofag oleh karenanya sangat penting dalam fase penyembuhan ini (Gurtner, 2007).

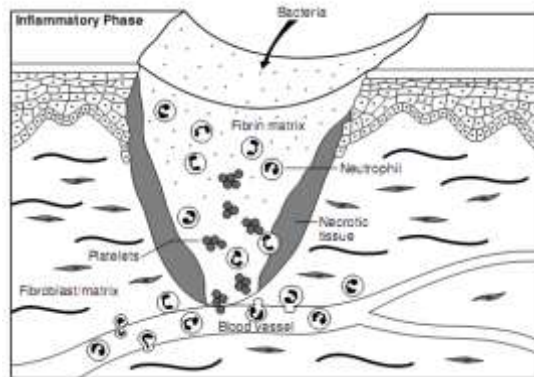
Selain melalui proses fagositosis, netrofil dan makrofag juga berperan dalam eliminasi bakteri dengan cara memproduksi dan melepaskan beberapa *proteinase* dan *reactive oxygen species* (ROS). ROS melalui sifat radikal bebasnya penting dalam mencegah infeksi bakterial, namun tingginya kadar ROS

secara berkepanjangan juga akan menginduksi kerusakan sel tubuh lainnya. ROS juga mengaktivasi dan mempertahankan kaskade asam arakidonat yang akan memicu ulang timbulnya berbagai mediator inflamasi lagi seperti prostaglandin dan leukotrien, sehingga proses inflamasi akan menjadi berkepanjangan (Lima dkk, 2009).

Limfosit dan sel mast merupakan sel terakhir yang bergerak menuju luka dan dapat ditemukan pada hari kelima sampai ketujuh pasca trauma. Peran keduanya masih belum jelas hingga saat ini (Gurtner, 2007).

Fase ini disebut juga *lag phase* atau fase lamban karena reaksi pembentukan kolagen baru sedikit, belum ada *tensile strength*, di mana pertautan luka hanya dipertahankan oleh fibrin dan fibronectin (Regan, 1991).

Aktivitas seluler yang terjadi adalah pergerakan leukosit menembus dinding pembuluh darah (diapedesis) menuju luka karena daya kemotaksis. Leukosit mengeluarkan enzim hidrolitik yang membantu mencerna bakteri dan kotoran luka. Limfosit dan monosit yang kemudian muncul ikut menghancurkan dan memakan kotoran luka dan bakteri (fagositosis). Fase ini disebut juga fase lamban karena reaksi pembentukan kolagen baru sedikit dan luka hanya dipertautkan oleh fibrin yang amat lemah (Gurtner, 2007).



Gambar 2. Fase inflamasi penyembuhan luka (Diambil dari Gurtner, 2007, *Grabb and Smith's Plastic Surgery*).

2. Fase proliferasi

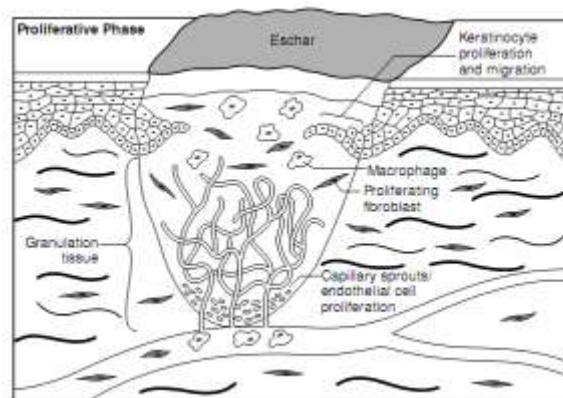
Fase proliferasi disebut juga fase fibroplasia karena yang menonjol adalah fase proliferasi fibroblas yang berlangsung mulai hari ke-4 hingga hari ke-21 pasca trauma. Pada gambar 3 tampak bahwa keratinosit yang berada pada tepi luka sesungguhnya telah mulai bekerja beberapa jam pasca trauma, menginduksi terjadinya reepitelialisasi. Pada fase ini matriks fibrin yang didominasi oleh platelet dan makrofag secara gradual digantikan oleh jaringan granulasi yang tersusun dari kumpulan fibroblas, makrofag dan sel endotel yang membentuk matriks ekstraseluler dan neovaskular (Gurtner, 2007).

Fibroblas berasal dari sel mesenkim yang belum terdiferensiasi, menghasilkan mukopolisakarida, asam aminoglisin, dan prolin yang merupakan bahan dasar kolagen serat yang akan mempertautkan tepi luka.

Pada fase ini, serat-serat dibentuk dan dihancurkan kembali untuk menyesuaikan diri dengan tegangan pada luka yang cenderung mengerut. Sifat ini, bersama dengan sifat kontraktif miofibroblast, menyebabkan tarikan pada tepi luka. Pada akhir fase ini, kekuatan regangan luka mencapai 25% jaringan normal.

Nantinya, dalam proses penyudahan, kekuatan serat kolagen bertambah karena ikatan intramolekul dan antarmolekul (Gurtner, 2007).

Pada fase fibroplasia ini, luka dipenuhi oleh sel radang, fibroblas, dan kolagen, membentuk jaringan berwarna kemerahan dengan permukaan berbenjol halus yang disebut jaringan granulasi. Epitel tepi luka yang terdiri atas sel basal terlepas dari dasarnya dan berpindah mengisi permukaan luka. Tempatnya kemudian diisi oleh sel baru yang terbentuk dari proses mitosis. Proses migrasi hanya terjadi ke arah yang lebih rendah atau datar. Proses ini baru berhenti setelah epitel saling menyentuh dan menutup permukaan luka. Pada saat permukaan luka sudah tertutup, proses fibroplasia dengan pembentukan jaringan granulasi juga akan terhenti dan mulailah proses pematangan dalam fase penyudahan (Hatz, 2004) .

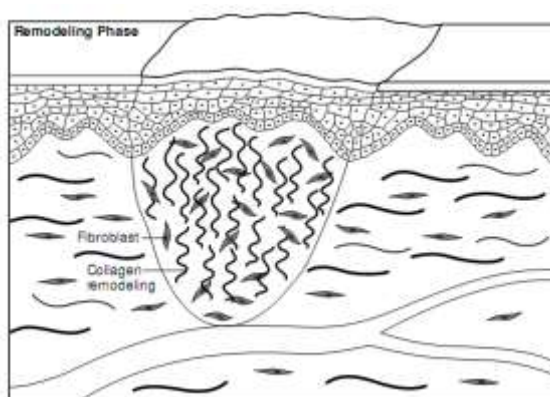


Gambar 3. Fase proliferasi penyembuhan luka (Diambil dari Gurtner, 2007, *Grabb and Smith's Plastic Surgery*).

3. Fase *remodelling*

Fase *remodelling* merupakan fase penyudahan dari penyembuhan luka dan merupakan fase terlama yang berlangsung dari hari ke-21 dan bisa sampai 1 tahun. Pada gambar 4 tampak bahwa pada fase ini dimulai segera setelah kavitas luka terisi oleh jaringan granulasi dan proses reepitelialisasi usai. Tubuh berusaha menormalkan kembali semua yang menjadi abnormal karena proses penyembuhan. Edema dan sel radang diserap, sel muda menjadi matang, kapiler baru menutup dan diserap kembali, kolagen yang berlebih diserap dan sisanya mengerut sesuai dengan regangan yang ada (Gurtner, 2007).

Selama proses ini dihasilkan jaringan parut yang pucat, tipis dan lemas, serta mudah digerakkan dari dasar. Terlihat pengerutan maksimal pada luka. Pada akhir fase ini, perupaan kulit mampu menahan regangan kira-kira 80% kemampuan kulit normal. Hal ini tercapai kira-kira 3-6 bulan setelah penyembuhan. Perupaan luka tulang (patah tulang) memerlukan waktu satu tahun atau lebih untuk membentuk jaringan yang normal secara histologi atau secara bentuk (Gurtner, 2007).



Gambar 4. Fase *remodelling* penyembuhan luka (Diambil dari Gurtner, 2007, *Grabb and Smith's Plastic Surgery*).

2.2 Delima

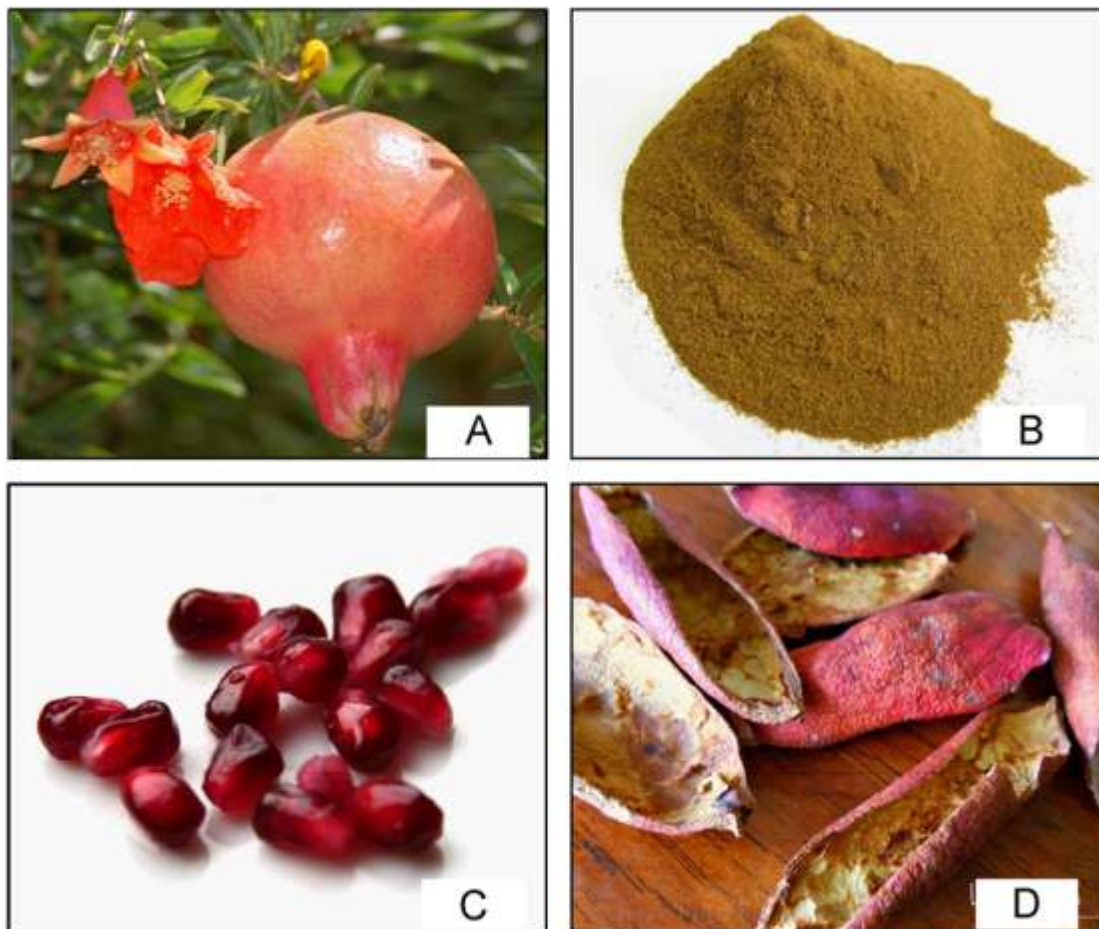
Delima (*Punica granatum L. Punicaceae*; nama ini diambil dari bahasa Latin *ponus* dan *granatus*), yang tampak pada gambar 5, termasuk kelompok buah berbiji yang dikonsumsi di seluruh dunia. Buah ini berasal dari Afghanistan, Iran, China, dan India. Dari bagian barat Persia (saat ini dikenal sebagai Iran), penyebaran delima melewati daerah Mediteranian menuju perbatasan Turki-Eropa dan Amerika Selatan, California dan Mexico (Celik dkk, 2009; Lansky dan Newman, 2007).

Sejak diketahui adanya peranan radikal bebas dalam patogenesis luka, mulai dilakukan berbagai penelitian mengenai aktivitas antioksidan. Hasilnya mengindikasikan bahwa ekstrak kulit delima memiliki aktivitas antioksidan yang potensial dengan cara menghambat peroksidasi lemak dan meningkatkan potensi *free radical scavenging*. Perlu diingat bahwa terdapat beberapa parameter yang terlibat dalam penyembuhan luka termasuk epitelialisasi, pertahanan antioksidan dan perubahan biokimia (hydroxyproline) (Hayouni dkk, 2011).

Kulit delima memiliki efek antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan buah dan bijinya (Li dkk, 2006). Kulit delima memiliki karakteristik disusun oleh membran seberat 26-30% dari total berat buah dan mengandung komponen phenol yang substansial termasuk flavonoids (anthocyanins, catechin) dan hydrolysable tannins (punicalin, pedunculagin, punicalagin, *gallic*, dan *ellagic acid*). Semua komponen ini terdapat dalam kulit dan jus delima, dimana sebanyak 92% aktivitas antioksidan didapatkan pada delima (Afaq, 2005; Negi, 2003).

Gallic acid, *ellagic acid*, dan punicalagin, selain sebagai properti *free-radical scavenging*, juga memiliki aktivitas antibakteri melawan flora usus,

seperti *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., aswellas *Vibrio cholerae* (Aviram, 2008; Lu, 2007).



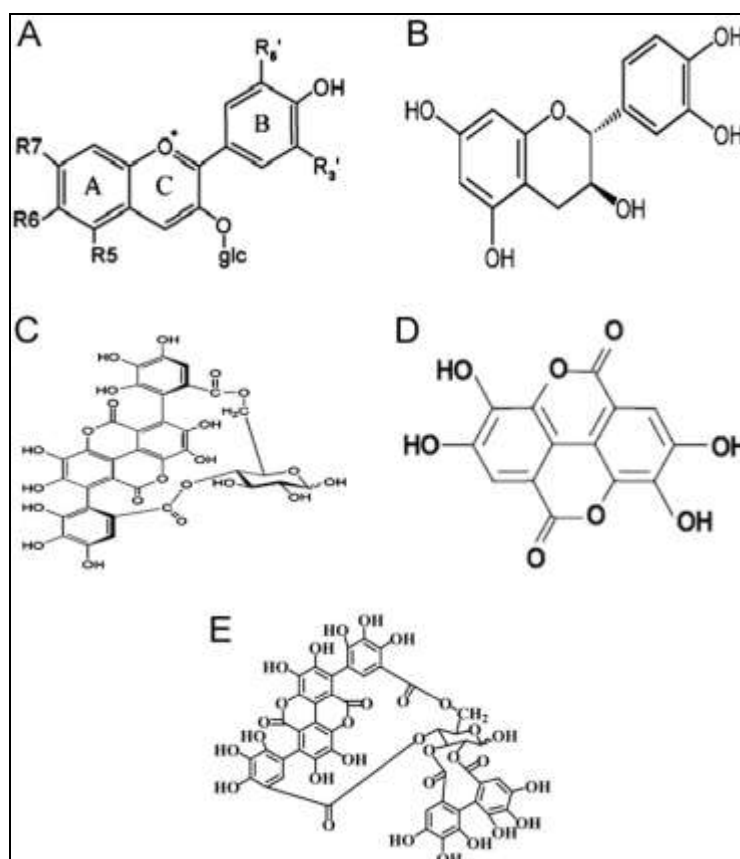
Gambar 5. Delima: Buah delima (A), Bubuk kulit delima (B), Biji delima (C), Kulit delima kering (D) (Diambil dari Ismail dkk, 2012, *Journal of Ethnopharmacology: Pomegranate peel and fruit extracts*).

Bioaktivitas *Ellagic Acid* Kulit Delima

Aktivitas antioksidan kulit delima dihubungkan dengan komponen phenol yang dikandungnya dalam bentuk anthocyanins, gallotannins, ellagitannins, gallagylesters, hydroxybenzoicacids, *hydroxycinnamic acid* dan dihydroflavonol, dimana *ellagic acid* merupakan komponen phenol yang dominan pada delima. Pada gambar 6 tampak struktur general komponen phenol utama yang terdapat

pada pada kulit delima. *Ellagic acid* terdapat dalam bentuk bebas dan terikat (EA-glycosides and ellagitannins) (Cerde, 2003; Larros, 2006).

Beberapa penelitian telah membuktikan efek cytoprotective *ellagic acid* dari kulit delima pada kerusakan sel dan DNA secara oksidatif. Konsentrasi *ellagic acid* yang lebih tinggi berhubungan secara langsung dengan aktivitas antioksidan kulit delima. Kandungan *ellagic acid* yang terdapat pada kulit dan jus delima dilaporkan sebesar 10-50 mg/100g dan 1-2,38 mg/100ml (Akbarpour dkk, 2009; Lu dan Yuan, 2008; Seeram, 2006).



Gambar 6. Struktur general komponen phenol utama pada kulit delima: (A)Anthocyanin, (B)Catechins, (C)Punicalin, (D)*Ellagic acid*, (E)Punicalagin (Diambil dari Ismail dkk, 2012, *Journal of Ethnopharmacology: Pomegranate peel and fruit extracts*).

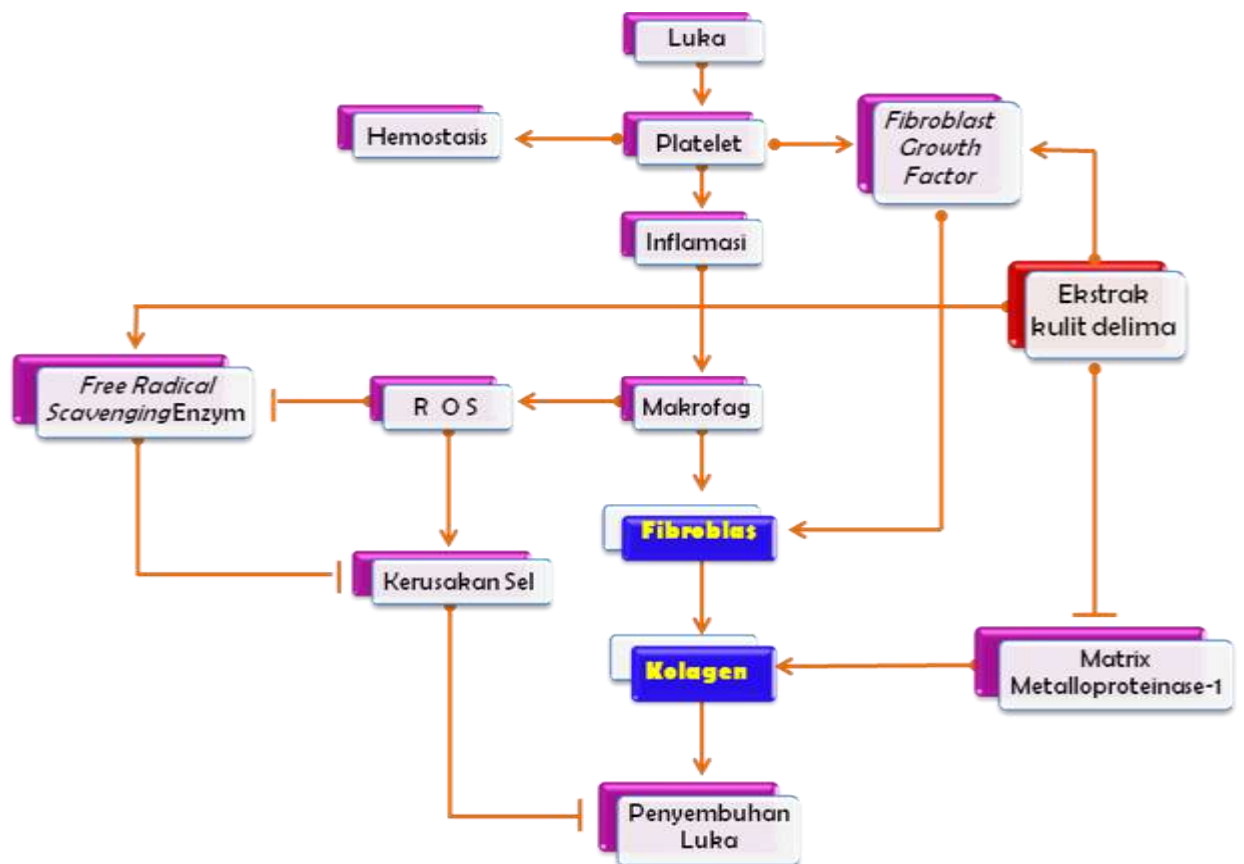
Penggunaan ekstrak kulit delima secara topikal direkomendasikan untuk jaringan nekrotik, luka insisi, dan luka eksisi.. Pada suatu penelitian, penggunaan ekstrak kulit delima sebanyak 100 mg/kg dalam bentuk aqueous secara oral dan penggunaan ekstrak kulit delima secara topikal dalam bentuk gel pada tikus Wistar, memperoleh hasil peningkatan penyembuhan luka yang signifikan (Adiga, 2010).

Telah diketahui bahwa *Reactive Oxygen Species* (ROS) dapat dikurangi jumlahnya dalam proses penyembuhan luka karena memiliki efek yang berbahaya terhadap sel dan jaringan (Aliyeva dkk, 2004). Keberadaan radikal bebas ini mengakibatkan terjadinya oxidative stress sehingga menimbulkan peroksidasi lemak, kerusakan DNA, dan inaktivasi enzim, termasuk *Free Radical Scavenging Enzyme* (FRSE). Bukti yang menyatakan adanya keterlibatan oksidan dalam patogenesis berbagai penyakit menimbulkan kesimpulan bahwa antioksidan dapat menjadi suatu terapi yang berguna pada keadaan ini. Dalam hal ini, pemakaian ekstrak kulit delima secara topikal, dimana terkandung komponen *free-radical-scavenging*, dapat mempercepat penyembuhan luka secara signifikan dan melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif. Selanjutnya dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan dari ekstrak delima memiliki peranan penting dalam pencegahan penyakit yang berhubungan dengan radikal bebas, termasuk proses penuaan, luka dan *ulcer* (Harmam, 2001).

BAB 3

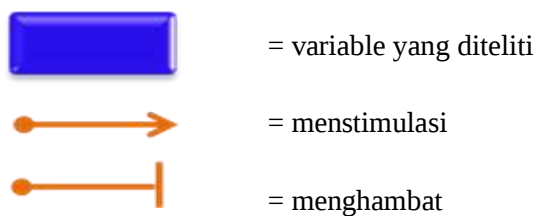
KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Kerangka konseptual pengaruh ekstrak kulit delima terhadap penyembuhan luka

Keterangan :



Rangkaian fase penyembuhan luka dimulai segera setelah terjadi luka. Platelet akan teragregasi dan mengakibatkan terjadinya proses hemostasis. Platelet yang teragregasi ini akan mengeluarkan berbagai mediator inflamasi sehingga memicu proses inflamasi. Pada fase inflamasi ini terjadi aktivasi berbagai sel inflamasi yang salah satunya adalah makrofag.

Berbagai macam *growth factor* diproduksi oleh makrofag dan berfungsi untuk memicu proses angiogenesis dan pembentukan fibroblas. Platelet juga tidak hanya berfungsi membentuk bekuan darah tetapi juga menghasilkan beberapa *growth factor* seperti yang salah satunya adalah *fibroblast growth factor* (FGF) dimana berfungsi untuk merangsang pertumbuhan dan proliferasi dari sel- luka seperti keratinosit dan fibroblas untuk bermigrasi kedalam ruang luka (Werner and Grose, 2003).

Kemampuan dan aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang dimiliki oleh delima disebabkan karena kandungan polyphenolnya yang sangat tinggi, dimana polyphenol yang terkandung dalam delima adalah *ellagic acid*. *Ellagic acid* ini memiliki aktifitas menstimulasi sintesis fibroblas dan mampu menurunkan produksi *Reactive Oxygen Species* (Gill dkk, 2000).

Fibroblas merupakan sel dominan pada hari ketiga sampai kelima pasca cedera dan mampu memicu pembelahan sel baru. Pada fase proliferasi, sintesis dan aktivasi fibroblas oleh protein sekretori dan makrofag memicu penggantian matriks fibrin menjadi matriks ekstraseluler baru dengan kolagen sebagai struktur utamanya. Matriks ekstraseluler ini akan mengalami *remodelling* secara terus menerus sampai luka sembuh.

Pada jaringan normal, sekresi dan aktifitas MMP-1 sangat rendah. Namun pada jaringan yang mengalami luka atau peradangan akan terjadi peningkatan produksi dan sekresi MMP-1. Pengaturan MMP-1 terjadi pada berbagai tingkatan, seperti transkripsi, modulasi mRNA, sekresi lokalisasi, pengaktifan zymogen, dan penghambatan aktivitas enzim proteolitik (Jones dkk, 2003).

Ekstrak kulit delima dapat menghambat produksi enzim Matrix Metalloproteinase-1 (MMP-1) yang merupakan enzim pendegradasi kolagen, sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka (Aslam dkk, 2005).

3.2 Hipotesis Penelitian

1. Pemberian topikal ekstrak kulit delima meningkatkan jumlah fibroblas pada penyembuhan luka *split thickness* kulit tikus.
2. Pemberian topikal ekstrak kulit delima meningkatkan ketebalan kolagen pada penyembuhan luka *split thickness* kulit tikus.

.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan *post test only control group design*.

4.2 Sampel

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus jantan (*Rattus novergicus*) strain *Wistar* yang berusia sekitar 12 minggu, dengan kisaran berat badan antara 250 – 300 gram. Tikus betina tidak digunakan untuk menghindari pengaruh faktor hormonal (estrogen dan progesteron) dalam penyembuhan luka. Masing-masing tikus dipelihara dalam kandang yang sama di ruangan yang sama, serta diberi makanan dalam jumlah dan jenis yang sama.

Besar sampel (n) untuk data berpasangan diperoleh dari rumus Federer sebagai berikut :

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

Dimana r adalah replikasi dan t adalah jumlah pengamatan atau intervensi, sehingga :

$$(r-1) (4-1) \geq 15$$

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

$$r-1 \geq 5$$

$$r \geq 6$$

Besar sampel yang diperlukan adalah lebih besar atau sama dengan 6 dan pada penelitian ini digunakan sebanyak 7 dimana terdapat 4 sampel yaitu kelompok dengan luka perlakuan yang diperiksa pada hari ke-3, kelompok dengan luka kontrol yang diperiksa pada hari ke-3, kelompok dengan luka perlakuan yang diperiksa pada hari ke-10 dan kelompok dengan luka kontrol yang diperiksa pada hari ke-10. Oleh karena setiap ekor tikus mendapat 2 luka yang berbeda, yaitu luka perlakuan berupa luka yang dirawat dengan ekstrak kulit delima dan luka kontrol yang dirawat secara *moist*, maka dibutuhkan 14 ekor tikus pada penelitian ini. Seluruh hewan coba diperlakukan sesuai dengan aturan *Animal Care and Use Committee* Universitas Airlangga.

4.3 Variabel

4.3.1 Variabel Bebas

Ekstrak kulit delima yang diberikan secara topikal.

4.3.2 Variabel Tergantung

Fibroblas dan kolagen yang dinilai secara histopatologis.

4.4 Definisi Operasional Variabel

4.4.1 Ekstrak kulit delima

Ekstrak kulit delima adalah hasil ekstraksi seluruh bagian kulit delima yang didapat dari produk Xi'an Biof Bio-Technology Co., Ltd. (Room 1-1111, High-tech Venture Park, No. 69 Jinye Road, Gaoxin Distric of Xi'an, People Republic of China (*Certificate of analysis* terlampir). Selanjutnya ekstrak kulit

delima yang akan diberikan pada hewan coba seberat disuspensikan dengan *sodium carboxy methyl cellulose* (CMC) 3% di dalam mortar agar homogenitas larutan dapat djaga tetap stabil. Pembuatan *sodium* CMC 3% dilakukan dengan cara menaburkan *sodium* CMC 3% sebanyak 3 gram dalam akuades panas 100 ml dan diaduk dengan bantuan *magnet stirrer* sampai larut.

Berdasarkan konsentrasi *ellagic acid* untuk penggunaan topikal adalah 1%, maka konsentrasi ekstrak kulit delima terstandar yang mengandung 40% *ellagic acid* yang digunakan adalah : $1/40 \times 100 \text{ gram} = 2,5 \text{ gram}$ (Saputro, 2011).

4.4.2 Fibroblas

Fibroblas adalah sel yang mensintesis matriks ekstraseluler dan kolagen yang berperan penting dalam penyembuhan luka. Fibroblas berfungsi mempertahankan integritas struktur jaringan ikat dengan memproduksi matriks ekstraseluler. Fibroblas berasal dari derivat mesenkim primitif. Fibroblas memiliki sitoplasma dengan inti sel berbentuk elips dengan satu sampai dua anak inti sel. Fibroblas memproduksi kolagen, glikosaminoglikan, serat elastin dan glikoprotein yang membentuk matriks ekstraseluler. Fibrosit sebagai bentuk inaktif fibroblas akan diinduksi oleh makrofag menjadi fibroblas pada penyembuhan luka. Fibroblas terakumulasi di daerah luka melalui angiogenesis antara dua sampai lima hari pasca cedera. Jumlah fibroblas mencapai puncaknya sekitar 1 minggu pasca trauma dan merupakan sel dominan pada minggu pertama fase penyembuhan luka (Falanga, 2004). Pada pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin*, fibroblas umumnya berkelompok membentuk suatu garis sejajar dengan sitoplasma berwarna kemerahan dan kepadatannya diukur dengan mikrometer *graticule* pada pembesaran 400x (Kiernan, 2008).

4.4.3 Kolagen

Kolagen merupakan protein yang terbanyak pada jaringan tubuh, termasuk kulit. Kolagen inilah yang memungkinkan terbentuknya *tensile strength* pada kulit. Kolagen dapat dilihat melalui pewarnaan HE sebagai zona rangkaian serat berwarna merah muda cerah (King, 2010). Pada penelitian ini ketebalan serat kolagen diukur dengan cara mengambil rata-rata dari tiga serat kolagen yang tampak utuh pada daerah tepi luka dengan menggunakan mikrometer di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x.

4.5 Bahan Penelitian

- Dipilih 14 ekor tikus jantan (*Rattus novergicus*) strain Wistar yang berusia sekitar 12 minggu, dengan kisaran berat badan antara 250 – 300 gram.
- Tikus dibius dengan menggunakan ketamin 20 mg/kg berat badan intramuskular.
- Masing-masing tikus dicukur bulunya pada bagian punggung, dibuat 2 luka *split thickness* berukuran 2 x 2 cm pada punggung kanan dan kiri menggunakan *humby knife*.
- Desinfeksi dengan solusio *povidon iodine* 10% dan Savlon 1 : 30.
- Luka pada punggung kiri hanya mendapat perawatan luka dengan menggunakan NaCl 0,9% dan Savlon 1 : 30 untuk mencegah timbulnya infeksi.

- Luka pada punggung kanan mendapat perawatan luka dengan menggunakan NaCl 0,9% dan Savlon 1 : 30, kemudian dioleskan ekstrak kulit delima.
- Masing-masing luka ditutup dengan *transparent dressing* untuk pengkondisian luka dalam keadaan lembab yang merupakan kondisi ideal untuk penyembuhan luka dan mencegah kontaminasi ke area sekitarnya.
- Semua tikus diberikan injeksi Penicillin Procaine 100 mg / kg berat badan intra muskuler.
- Tikus dipelihara pada kandangnya masing-masing serta diberi makanan dan minuman dengan jumlah dan jenis yang sama.

4.6 Prosedur Operasional Penelitian

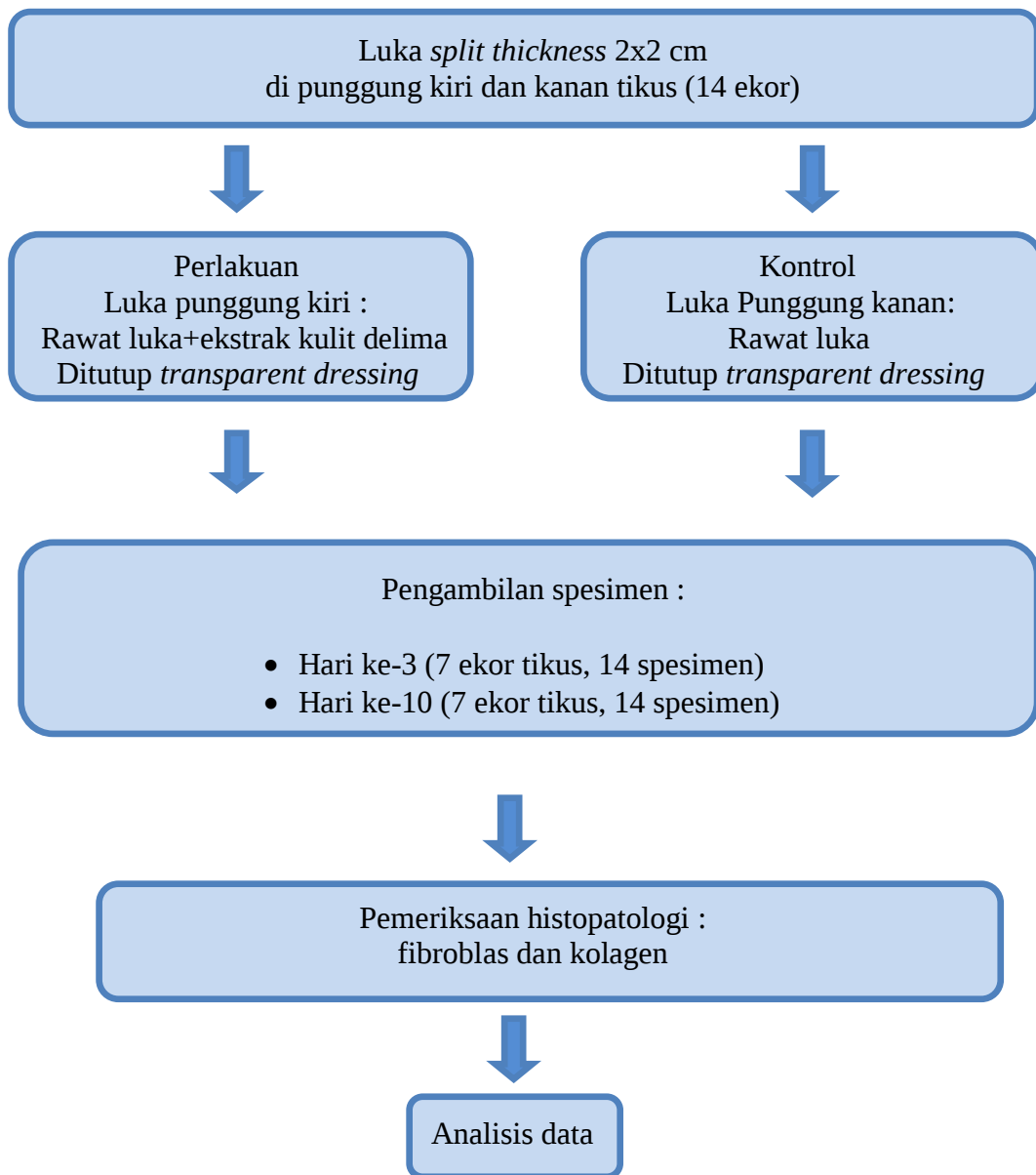
- Spesimen diambil pada waktu bersamaan dengan cara eksisi luka *split thickness* pada punggung kiri dan kanan dengan ukuran sekitar 2 x 2 cm sedalam fascia dan menyertakan 0,5 cm jaringan sehat di sekitar luka.
- Spesimen diambil pada hari ke-3 (fase inflamasi) dan hari ke-10 (fase proliferasi), masing-masing dikorbankan 7 ekor kelinci pada setiap fase.
- Pengorbanan tikus dilakukan dengan menyuntikkan pentobarbital 60-100 mg/kg berat badan intraperitoneal pada daerah sedikit *midlateral* antara *processus xyphoideus* dan *tuberculum pubicum*.

- Spesimen yang diambil kemudian dimasukkan ke dalam botol yang berisi formalin 10% untuk fiksasi jaringan.
- Spesimen dikirim ke bagian patologi anatomi untuk dilakukan pemeriksaan histopatologi. Pemeriksaan kepadatan fibroblas dan ketebalan kolagen dilakukan dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin*. Preparat diletakkan di bawah mikroskop cahaya kemudian fibroblas dan kolagen diukur menggunakan pengukur mikrometer *graticule* pada pembesaran 400x.

4.7 Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia Universitas Airlangga Surabaya untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba. Pemeriksaan histopatologis spesimen dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RS Dr. Soetomo Surabaya.

4.8 Alur Penelitian



4.9 Analisis dan Penyajian Data

Data yang dikumpulkan dianalisis menggunakan metode analisis *multivariate analysis of varian* (Manova).

4.11 Anggaran Penelitian

Tikus	Rp. 1.750.000
Perawatan tikus	Rp. 1.500.000
Jarum suntik, tabung reaksi dan pisau bedah	Rp. 1.750.000
Ekstrak kulit delima	Rp. 1.000.000
Balutan, obat antibiotika dan anestesi	Rp. 1.000.000
Pemeriksaan histopatologi	Rp. 5.000.000
Pengolahan data	Rp. 1.000.000
Pencetakan dan penjilidan	Rp. 500.000
Total	Rp.13.500.000

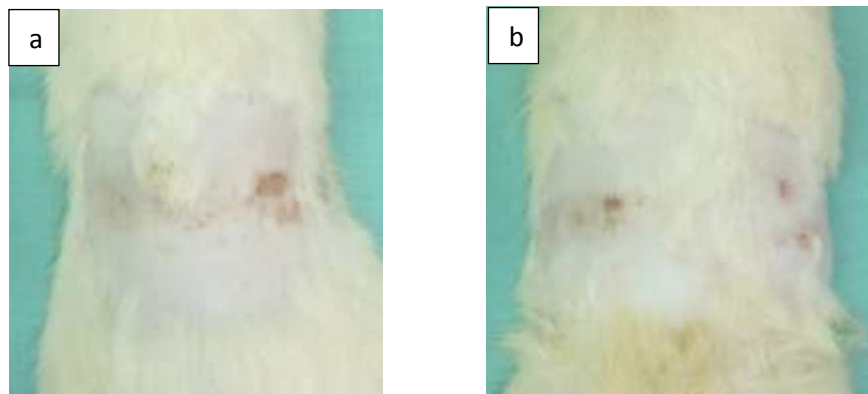
BAB 5

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian berupa data jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen dilakukan analisis awal dengan uji Kolmogorov-Smirnov satu sampel dan diperoleh bahwa data penelitian memiliki distribusi normal. Data penelitian kemudian dianalisis dengan menggunakan metode analisis *multivariate analysis of varians* (MANOVA). Analisis ini membandingkan dua variabel penelitian antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

5.1 Gambaran Klinis Luka

Pada pengamatan luka secara klinis hari ke-3 belum tampak epitelialisasi pada tepi luka kontrol sedangkan pada luka perlakuan sudah tampak epitelisasi dengan ukuran luka yang lebih kecil dibandingkan luka kontrol (Gambar 7.a).



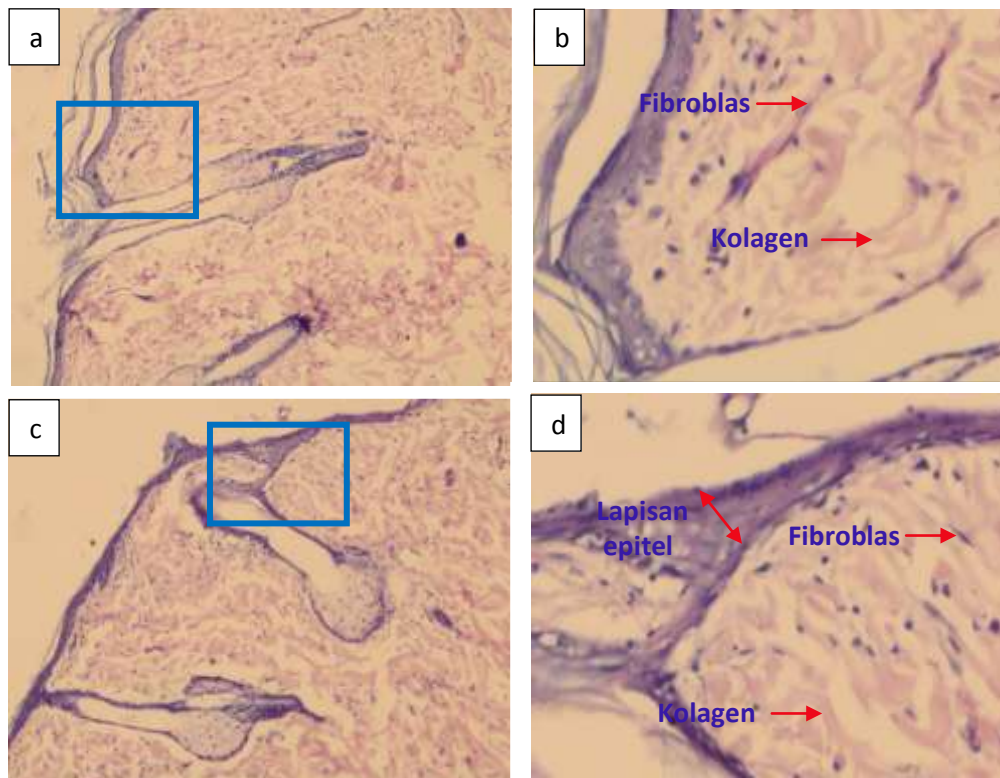
Gambar 7. Gambaran klinis luka perlakuan (punggung kiri) dan luka kontrol (punggung kanan) (a) hari ke-3 dan (b) hari ke-10.

Pada pengamatan luka secara klinis hari ke-10 baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan tampak mengalami epitelialisasi pada tepi

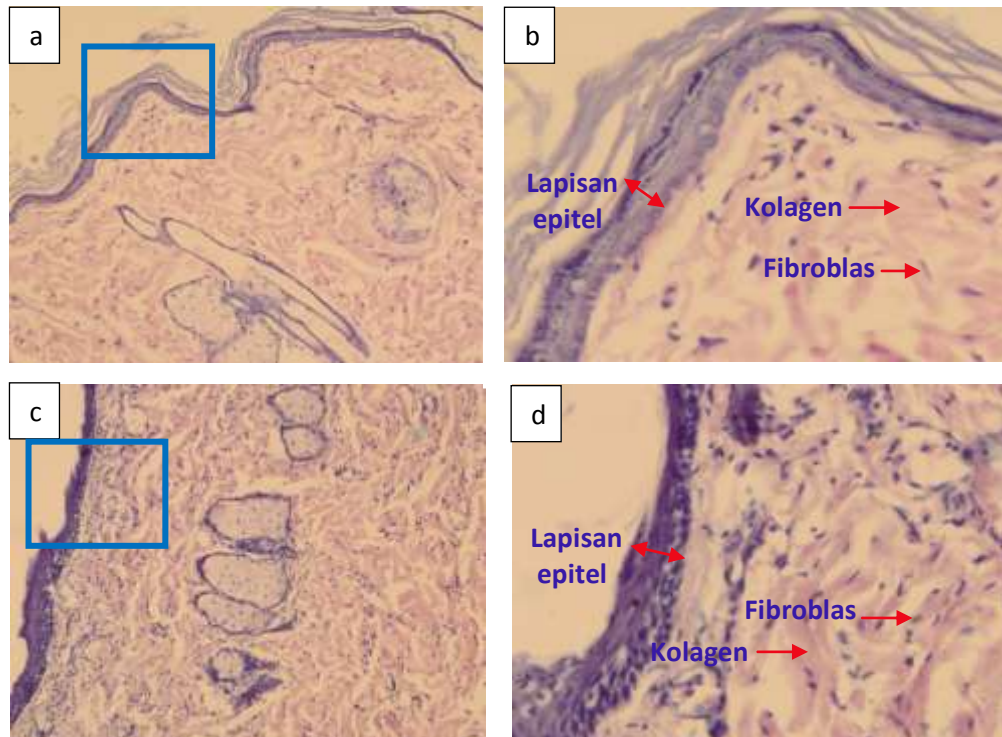
luka dimana pada kelompok perlakuan sudah tidak tampak adanya luka sedangkan pada kelompok kontrol masih tampak adanya luka namun dengan ukuran luka yang lebih kecil dibandingkan dengan luka kelompok kontrol pada hari ke-3 (Gambar 7.b). Tidak dilakukan analisis statistik untuk membandingkan ukuran luka kelompok kontrol dan luka kelompok perlakuan. Tidak tampak adanya tanda infeksi pada kedua kelompok luka pada pengamatan hari ke-3 dan pengamatan hari ke-10.

5.2 Gambaran Histologis Luka

Seluruh spesimen luka diperiksa dengan pembesaran 100 kali untuk menentukan daerah pemeriksaan kemudian diperiksa dengan pembesaran 400 kali untuk menilai variabel yang akan diperiksa (gambar 8 dan gambar 9).



Gambar 8. Gambaran histologis pengamatan hari ke-3, luka kontrol pembesaran 100x (a) dan 400x (b) serta luka perlakuan pembesaran 100x (c) dan 400x (d).



Gambar 9. Gambaran histologis pengamatan hari ke-10, luka kontrol pembesaran 100x (a) dan 400x (b) serta luka perlakuan pembesaran 100x (c) dan 400x (d).

5.2.1 Fibroblas

Jumlah fibroblas per lapangan pandang pada kelompok luka perlakuan pada pengamatan hari ke-3 (gambar 8.d) lebih banyak dibandingkan dengan kelompok luka kontrol pengamatan hari ke-3 (gambar 8.b). Sedangkan pada pengamatan hari ke-10 jumlah fibroblas kelompok luka perlakuan (gambar 9.d) lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok luka kontrol (gambar 9.b). Jumlah fibroblas pada kelompok luka perlakuan menunjukkan peningkatan dibandingkan kelompok luka kontrol pada hari ke-3. Sedangkan pada pengamatan hari ke-10, pada kelompok luka kontrol tetap menunjukkan peningkatan jumlah fibroblas namun pada kelompok luka perlakuan menunjukkan penurunan jumlah fibroblas.

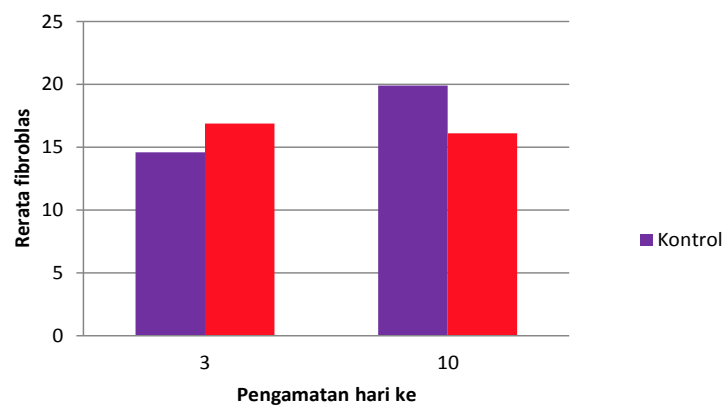
5.2.2 Kolagen

Secara histologis, kolagen tampak paling tebal pada kelompok luka kontrol pengamatan hari ke-10 (gambar 8.b). Sedangkan ketebalan kolagen pada kelompok luka perlakuan pengamatan hari ke-10 tampak paling tipis dibandingkan seluruh kelompok luka (gambar 8.d). Kolagen tampak semakin menebal pada pengamatan hari ke-10 pada kelompok luka kontrol, sedangkan pada kelompok luka perlakuan kolagen tampak semakin tipis bila dibandingkan dengan pengamatan pada hari ke-3.

5.3 Diagram Perbandingan Variabel Penelitian

5.3.1 Perbandingan jumlah fibroblas

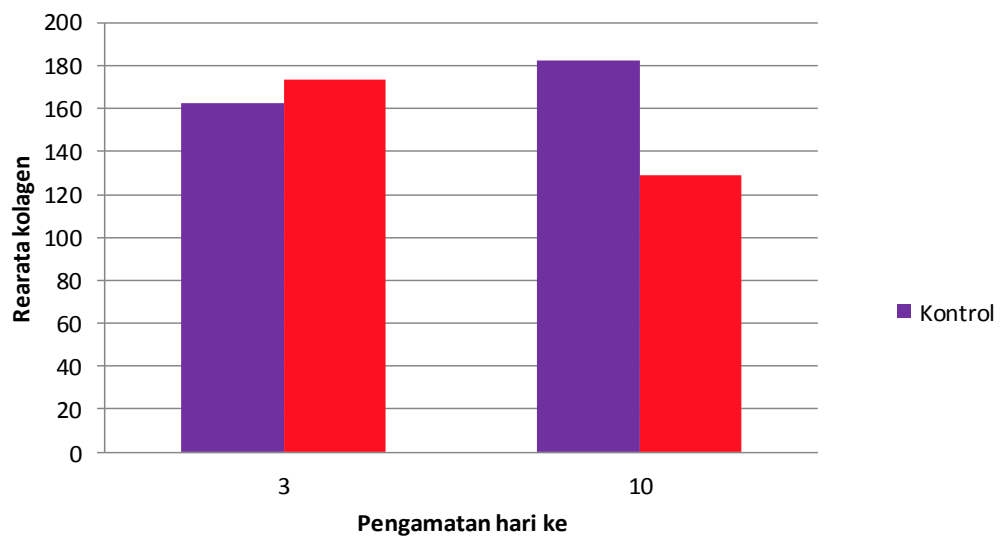
Jumlah fibroblas tertinggi diperoleh pada kelompok luka kontrol pengamatan hari ke-10 dan terendah diperoleh pada kelompok luka kontrol pengamatan hari ke-3 (gambar 10). Jumlah fibroblas semakin meningkat pada kelompok luka kontrol seiring dengan periode pengamatan. Akan tetapi pada kelompok luka perlakuan memiliki jumlah fibroblas yang lebih banyak dibandingkan kelompok luka kontrol pada pengamatan hari ke-3 dimana jumlah fibroblas pada kelompok luka perlakuan mengalami penurunan pada pengamatan hari ke-10.



Gambar 10. Diagram perbandingan rerata kepadatan fibroblas antara kelompok luka perlakuan dengan kelompok luka kontrol pada pengamatan hari ke-3 dan hari ke-10.

5.3.3 Perbandingan ketebalan kolagen

Kelompok luka perlakuan pengamatan hari ke-10 memiliki ketebalan kolagen paling tipis diantara seluruh kelompok pengamatan dan kelompok luka kontrol hari ke-10 memiliki ketebalan kolagen paling tebal diantara seluruh kelompok pengamatan (gambar 11). Kolagen pada kelompok luka kontrol semakin tebal seiring dengan periode pengamatan, namun kolagen pada kelompok luka perlakuan lebih tebal pada pengamatan hari ke-3 dibandingkan kelompok luka kontrol. Pada pengamatan hari ke-10 kolagen kelompok luka perlakuan mengalami penurunan dibandingkan kelompok luka kontrol.



Gambar 11. Diagram perbandingan rerata ketebalan kolagen antara kelompok luka perlakuan dengan kelompok luka kontrol pada pengamatan hari ke-3 dan hari ke-10.

5.4 Analisis Hasil Penelitian

5.4.1 Analisis hasil penelitian perbandingan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Pada pengamatan hari ke-3 diperoleh rerata jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen yang secara statistik tidak memiliki perbedaan bermakna. Rerata jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen lebih tinggi pada kelompok luka perlakuan pengamatan hari ke-3 (fase inflamasi) (tabel 1).

Tabel 1. Rerata perbandingan jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen pada pengamatan hari ke-3.

Variabel	Kelompok		Harga p
	Perlakuan	Kontrol	
Fibroblas (/lapangan pandang)	16,9±2,9	14,6±4,1	0,309
Kolagen (mikrometer)	173,4±39,3	162,9±20,6	0,603

Pada pengamatan hari ke-10 (fase proliferasi), jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen lebih tinggi pada kelompok luka kontrol dibanding luka perlakuan (tabel 2).

Tabel 2. Rerata perbandingan jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen pada pengamatan hari ke-10.

Variabel	Kelompok		Harga p
	Perlakuan	Kontrol	
Fibroblas (/lapangan pandang)	16,1±2,4	19,9±3,2	0,022
Kolagen (mikrometer)	129,1±27,8	182,3±32,7	0,004

5.4.2 Analisis hasil penelitian perbandingan pengamatan hari ke-3 dan pengamatan hari ke-10

Jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen pada kelompok luka perlakuan pengamatan hari ke-10 dibanding pengamatan hari ke-3 mengalami penurunan, dimana jumlah fibroblast mengalami penurunan yang tidak bermakna secara statistik ketebalan kolagen mengalami penurunan yang bermakna secara statistik (tabel 3).

Tabel 3. Rerata perbandingan jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen pada kelompok luka perlakuan.

Variabel	Pengamatan		Harga p
	Hari ke-3	Hari ke-10	
Fibroblas (/lapangan pandang)	16,9±2,9	16,1±2,4	0,626
Kolagen (mikrometer)	173,4±39,3	129,1±27,8	0,031

Pada kelompok luka kontrol, jumlah fibroblas pengamatan hari ke-3 dibandingkan dengan pengamatan hari ke-10 mengalami peningkatan yang bermakna secara statistik. Ketebalan kolagen mengalami peningkatan pula seiring periode pengamatan, namun tidak bermakna secara statistik (table 4).

Tabel 4. Rerata perbandingan jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen pada kelompok luka kontrol.

Variabel	Pengamatan		Harga p
	Hari ke-3	Hari ke-10	
Fibroblas (/lapangan pandang)	14,6±4,1	19,9±3,2	0,020
Kolagen (mikrometer)	162,9±20,6	182,3±32,7	0,208

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan pengaruh pemberian topikal ekstrak kulit delima terhadap penyembuhan luka *split thickness* kulit tikus. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group*. Perlakuan diberikan pada hewan coba berupa tikus jantan (*Rattus novergicus*) strain *Wistar* yang berusia sekitar 12 minggu, dengan kisaran berat badan antara 250 – 300 gram. Terdapat 4 sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu kelompok tikus dengan luka kontrol yang diamati pada hari ke-3, kelompok tikus dengan luka perlakuan yang diamati pada hari ke-3, kelompok tikus dengan luka kontrol yang diamati pada hari ke-10 dan kelompok tikus dengan luka perlakuan yang diamati pada hari ke-10. Besar sampel pada penelitian ini sebanyak 7 dimana pada setiap hewan coba mendapat 2 luka yaitu luka kontrol yang dirawat secara *moist* dan luka perlakuan yang dirawat dengan ekstrak kulit delima.

Ekstrak kulit delima adalah hasil ekstraksi seluruh bagian kulit delima yang didapat dari produk Xi'an Biof Bio-Technology Co., Ltd. (Room 1-1111, High-tech Venture Park, No. 69 JinYE Road, Gaoxin Distric of Xi'an, People Republic of China (*Certificate of analysis* terlampir). Selanjutnya ekstrak kulit delima yang akan diberikan pada hewan coba seberat disuspensikan dengan *sodium carboxy methyl cellulose* (CMC) 3% di dalam mortar agar homogenitas larutan dapat djaga tetap stabil. Pembuatan *sodium* CMC 3% dilakukan dengan

cara menaburkan *sodium* CMC 3% sebanyak 3 gram dalam akuades panas 100 ml dan diaduk dengan bantuan *magnet stirrer* sampai larut.

Kandungan *ellagic acid* dalam ekstrak kulit delima yang digunakan pada penelitian ini sebesar 40%. Hal ini sesuai dengan standart minimal kandungan *ellagic acid* sebagai bahan aktif yang digunakan untuk standarisasi ekstrak yang berasal dari delima (Jurenka, 2008). Berdasarkan konsentrasi *ellagic acid* untuk penggunaan topikal adalah 1%, maka konsentrasi ekstrak kulit delima terstandar yang mengandung 40% *ellagic acid* yang digunakan adalah : $1/40 \times 100 \text{ gram} = 2,5 \text{ gram}$ (Saputro, 2011).

Masing-masing tikus dibuat 2 luka *split thickness* berukuran 2 x 2 cm pada punggung kanan dan kiri yang dilakukan secara aseptik. Pembuatan semua luka dilakukan oleh peneliti dengan menggunakan alat yang sama dan pisau yang baru untuk setiap luka pada hari yang sama. Luka pada punggung kanan merupakan luka kontrol yang dirawat dengan NaCl 0,9% dan antiseptik untuk mencegah timbulnya infeksi, sedangkan luka pada punggung kiri merupakan luka perlakuan yang dirawat dengan ekstrak kulit delima. Kedua luka ditutup dengan *transparent dressing* untuk pengkondisian luka dalam keadaan lembab yang merupakan kondisi ideal penyembuhan luka dan mencegah kontaminasi ke area sekitarnya.

Variabel yang diteliti berupa fibroblas dan kolagen diperiksa pada 2 kali pengamatan yaitu pada hari ke-3 dan hari ke-10 dengan mengorbankan 7 ekor tikus pada masing-masing pengamatan. Pengamatan pertama dilakukan pada hari ke-3 untuk mengetahui perubahan variabel penelitian selama fase inflamasi. Pengamatan kedua dilakukan pada hari ke-10 untuk mengetahui perubahan

variabel penelitian selama fase proliferasi. Spesimen luka pada punggung kiri dan kanan diambil bersamaan secara eksisi sampai sedalam fasia.

Luka diamati secara makroskopis pada 2 kali pengamatan. Pada pengamatan hari ke-3, belum tampak adanya epitelialisasi di tepi luka pada kelompok kontrol sedangkan pada kelompok perlakuan sudah tampak adanya epitelisasi. Pada pengamatan hari ke-10, kelompok luka perlakuan mengalami epitelialisasi seluruhnya sehingga tidak tampak lagi adanya luka, sedangkan pada kelompok luka kontrol sudah tampak mengalami epitelisasi sehingga memiliki ukuran luka yang lebih kecil dibandingkan luka kontrol pada pengamatan hari ke-3. Tidak dilakukan analisis statistik untuk membandingkan ukuran luka kontrol dengan luka perlakuan.

Seluruh spesimen dilakukan pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin* menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali. Masing-masing spesimen diperiksa jumlah fibroblas dan ketebalan kolagennya.

Jumlah fibroblas semakin meningkat pada pengamatan hari ke-10 dibandingkan pengamatan hari ke-3 pada kelompok luka kontrol, sedangkan pada kelompok luka perlakuan jumlah fibroblas mengalami penurunan pada pengamatan hari ke-10 dibandingkan pengamatan hari ke-3. Tetapi jumlah fibroblas lebih padat pada kelompok luka perlakuan dibandingkan kelompok luka kontrol pada pengamatan hari ke-3. Peningkatan kepadatan fibroblas ini disebabkan oleh meningkatnya rangsangan protein sekretori FGF sebagai hasil dari degranulasi platelet (Marx, 2004). Ekstrak kulit delima mempunyai kemampuan dan aktivitas antioksidan yang tinggi karena memiliki kandungan polyphenol yang sangat tinggi, dimana polyphenol yang terkandung dalam delima

adalah *ellagic acid*. *Ellagic acid* ini memiliki aktifitas menstimulasi sintesis fibroblas (Gill dkk, 2000) sehingga ekstrak kulit delima dapat meningkatkan jumlah fibroblas seperti yang terlihat pada hasil pengamatan kelompok luka perlakuan pada hari ke-3 dibandingkan kelompok luka kontrol.

Fibroblas merupakan sel utama selama fase proliferasi yang berperan dalam menyediakan matriks ekstraseluler sebagai kerangka untuk migrasi keratinosit. Fibroblas yang lebih padat membantu pembentukan matriks ekstraseluler yang lebih padat dan kompak sehingga memacu proses epitelialisasi oleh keratinosit (Gurtner, 2007). Jumlah fibroblas yang lebih banyak pada kelompok luka perlakuan menyebabkan kelompok luka perlakuan mengalami epitelisasi yang lebih cepat dibandingkan kelompok luka kontrol seperti yang terlihat pada gambar 7. Namun pada penelitian ini tidak dilakukan analisis statistik untuk membandingkan ukuran luka kelompok kontrol dan luka kelompok perlakuan yang telah mengalami epitelisasi.

Pada fase proliferasi luka dipenuhi oleh sel radang, fibroblas, dan kolagen yang membentuk jaringan berwarna kemerahan dengan permukaan berbenjol halus yang disebut jaringan granulasi. Epitel tepi luka yang terdiri atas sel basal terlepas dari dasarnya dan berpindah mengisi permukaan luka. Tempatnya kemudian diisi oleh sel baru yang terbentuk dari proses mitosis. Proses migrasi hanya terjadi ke arah yang lebih rendah atau datar. Proses ini baru berhenti setelah epitel saling menyentuh dan menutup permukaan luka. Pada saat permukaan luka sudah tertutup, proses fibroplasia dengan pembentukan jaringan granulasi juga akan terhenti dan mulailah proses pematangan dalam fase penyudahan (Hatz, 2004) . Hal ini menjelaskan pada pengamatan hari ke-10

jumlah fibroblas pada kelompok luka perlakuan mengalami penurunan dibandingkan pada hari ke-3 karena pada hari ke-10 (fase proliferasi) luka pada kelompok perlakuan sudah tertutup semua oleh epitel sehingga fibroblas tidak disintesis lagi sehingga jumlahnya menurun. Disini dapat disimpulkan bahwa proses penyembuhan luka berjalan dengan baik karena ekstrak kulit delima mempercepat terjadinya epitelisasi.

Kolagen pada pengamatan hari ke-3 lebih tebal pada kelompok luka perlakuan dibandingkan dengan kelompok luka kontrol. Pada jaringan normal, sekresi dan aktifitas MMP-1 sangat rendah, namun pada jaringan yang mengalami luka atau peradangan akan terjadi peningkatan produksi dan sekresi MMP-1 (Jones dkk, 2003). Ekstrak kulit delima dapat menghambat produksi enzim Matrix Metalloproteinase-1 (MMP-1) yang merupakan enzim pendegradasi kolagen (Aslam dkk, 2005). Hal ini dibuktikan dari hasil penelitian dimana kolagen lebih tebal pada kelompok luka perlakuan pada pengamatan hari ke-3 (fase inflamasi) karena ekstrak kulit delima dapat menghambat produksi MMP-1 sehingga sintesis kolagen meningkat.

Hasil yang berbeda diperoleh pada pengamatan hari ke-10 dimana kolagen lebih tebal pada kelompok luka kontrol dibandingkan dengan kelompok luka perlakuan. Jadi pada kelompok luka perlakuan mengalami penurunan ketebalan kolagen pada saat pengamatan hari ke-10 (fase proliferasi), namun lukanya telah tertutup semua oleh epitel. Saat luka sudah tertutup epitel, ekstrak kulit delima akan menurunkan sintesis kolagen yang berlebihan sehingga dapat mencegah timbulnya parut yang berlebihan, namun untuk membuktikan hal ini perlu

dilakukan penelitian lebih lanjut lagi dengan waktu pengamatan yang diperpanjang.

Penelitian ini secara umum menunjukkan bahwa aplikasi ekstrak kulit delima secara topikal pada luka *split thickness* dapat mempercepat terjadinya proses epitelisasi. Hal ini dibuktikan dengan adanya peningkatan jumlah fibroblas pada pengamatan hari ke-3 yaitu pada fase inflamasi, namun mengalami penurunan jumlah pada hari ke-10 (fase proliferasi). Hal yang sama juga terjadi pada kolagen dimana didapatkan peningkatan ketebalan kolagen pada hari ke-3 (fase inflamasi) yang berperan sebagai struktur utama matriks ekstraseluler baru jaringan luka dan mengalami penurunan pada hari ke-10 (fase proliferasi). Dari hasil yang kita dapatkan terlihat bahwa ekstrak kulit delima ini dapat meningkatkan jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen pada fase inflamasi tetapi menurunkan jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen pada fase proliferasi.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Pemberian topikal ekstrak kulit delima meningkatkan jumlah fibroblas pada fase inflamasi dan menurunkan jumlah fibroblas pada fase proliferasi pada penyembuhan luka *split thickness* kulit tikus.
2. Pemberian topikal ekstrak kulit delima meningkatkan ketebalan kolagen pada fase inflamasi dan menurunkan ketebalan kolagen pada fase proliferasi pada penyembuhan luka *split thickness* kulit tikus.
3. Pemberian topikal ekstrak kulit delima mempercepat terjadinya epitelisasi.

7.2 Saran

1. Dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh pemberian topikal ekstrak kulit delima pada luka donor kulit manusia setelah dilakukan tindakan *Split Thickness Skin Graft* (STG).
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut dengan jangka waktu pengamatan diperpanjang untuk mengetahui pengaruh pemberian topikal ekstrak kulit delima dalam mencegah timbulnya parut hipertropik atau keloid.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiga S., Tomar P., Rajput R.R. 2010. Effect of *Punica granatum* Peel Aqueous Extract on Normal and Dexamethasone Suppressed Wound Healing in Wistar Rats. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research vol. 5, p: 134–40.
- Afaq F., Saleem M., Krueger C.G., Reed J.D., Mukhtar H. 2005. Anthocyanin and hydrolysable tannin – Rich Pomegranate Fruit Extract Modulates MAPK and NF-kappaB. International Journal of Cancer vol. 113, p: 423–33.
- Akbarpour V., Hemmati K., Sharifani M. 2009. Physical and Chemical Properties of Pomegranate (*Punica granatum L.*) Fruit in Maturation Stage. American- Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences vol. 6, p: 411–6.
- Aliyeva E., Umur S., Zafer E., Acigoz G. 2004. The Effect of Polylactide Membranes on The Levels of Reactive Oxygen Species in Periodontal Flaps During Wound Healing. Biomaterials vol. 25, p: 4633–38.
- Aslam M.N., Lansky E.P., Varani J. 2006. Pomegranate as a cosmeceutical source: Pomegranate fractions promote proliferation and procollagen synthesis and inhibit matrix metalloproteinase-1 production in human skin cells. Journal of Ethnopharmacology vol. 103, p: 311–318.
- Aviram M., Dornfeld L., Rosenblat M., Volkova N., Kaplan M., Coleman R., Hayek T., Presser D., Fuhrman B. 2008. Pomegranate Juice Consumption Reduces Oxidative Stress, Atherogenic Modifications to LDL and Platelet Aggregation: Studies in Humans and in Atherosclerotic Apolipoprotein E Deficient Mice. American Journal Clinical Nutrition vol. 71, p: 1062–76.
- Begum D., Nath S.C. 2000. Ethnobotanical Review of Medicinal Plants Used For Skin Diseases and Related Problems in Northeastern India, Journal of Herbs. Spices and Medicinal Plants vol. 7, p: 55–93.
- Buffoni F., Bancheli G., Cambi S., Ignesti G., Irisind R., Raimondi L. 1993. Skin Wound Healing Some Biochemical Parameters in Guinea Pig. Journal Pharmaceutics and Pharmacology vol. 45, p: 784–90.
- Celik I., Temur A., Isik I. 2009. Hepatoprotective Role and Antioxidant Capacity of Pomegranate (*Punica granatum*) Exposed in Rats. Food and Chemical

Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association vol. 47, p: 145–9.

- Cerda, B., Ceron, J.J., Tomas-Barberan, F.A., Espin, J.C., 2003. Repeated Oral Administration of High Doses of The Pomegranate Ellagitannin Punicalagin to Rats For 37 Day Is Not Toxic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* vol. 51, p: 3493–501.
- Clark R.A. 1996. Wound Repair an Overview and General Consideration. In: Clark RA, Henson PM, editors. *Molecular and Cellular Biology of Wound Repair*. The Plenum Press. New York, p: 473-88.
- Falanga V, Kerdel FA. 2004. Split-thickness Skin Grafting of Leg Ulcers. The University of Miami Department of Dermatology's Experience . *Dermatol Surgery* vol. 21, p: 701.
- Feldman L. 1991. Which Dressing For Split-Thickness Skin Graft Donor Sites? *Ann Plast Surg* vol. 27, p: 288– 91.
- Fischer U.A., Carle R., Kammerer D.R. 2011. Identification and Quantification of Phenolic Compounds From Pomegranate (*Punica granatum L.*) Peel, Mesocarp, Aril and Differently Produced Juices by HPLC-DAD–ESI/MS. *Food Chemistry* vol. 127, p: 807–21.
- Gill M.I., Tomas-Barberan F.A., Hess-Pierce B. 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J Agric Food Chem* 48, p: 4581-9.
- Glynn LE. 1991. The Pathology of Scar Tissue Formation: Handbook of Inflammation vol. 3, p: 120-8.
- Gurtner GC, 2007. Wound Healing, Normal and Abnormal: Grabb and Smith's Plastic Surgery 6th edition, p: 15-22.
- Hayouni E.A, Miled K, Boubaker S. 2011. Hydroalcoholic Extract Based-ointment From *Punica granatum L.* Peels With Enhanced in Vivo Healing Potential on Dermal Wounds. *Phytomedicine* vol. 18, p: 976– 84.
- Harmam D., 2001. Aging: Overview. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* vol. 928, p: 1–8.
- Hatz RA., Niedner R., Vanscheidt W. 2004. Physiology of Wound Healing. Berlin: Springer-Verlag GmbH Co, p: 1-16.
- Hutchinson JJ., McGuckin M. 2003. Occlusive Dressings: a Microbiologic and Clinical Review. *Am J Infect Contr* vol. 18, p: 257-68.

- Ismail T., Piero S., Saeed A. 2012. Pomegranate Peel and Fruit Extracts: A Review of Potential Anti-inflammatory and Anti-infective Effects. *Journal of Ethnopharmacology* vol. 143, p: 397–405.
- Jurenka J. 2008. Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum* L.): A Review. *Alternative medicine review* vol. 13, no. 21, p: 128-44.
- Kiernan, J. A. 2008. *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice* 4th ed., p: 156-58.
- Lansky E.P., Newman R.A. 2007. *Punica granatum* (Pomegranate) and Its Potential For Prevention and Treatment of Inflammation and Cancer. *J. Ethnopharmacol.* Vol. 109, p: 177–206.
- Larrosa M., Gonzalez-Sarrias A., Garcia-Conesa M.T., Tomas-Barberan F.A., Espin J.C. 2006. Urolithins, Ellagic Acid Derived Metabolites Produced by Human Colonic Microflora, Exhibit Estrogenic and Antiestrogenic Activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* vol. 54,p: 1611–20.
- Li Y.F., Guo C.J., Yang J.J., Wei J.Y., Xu J., Cheng S. 2006. Evaluation of Antioxidant Properties of Pomegranate Peel Extract In Comparison With Pomegranate Pulp Extract. *Food Chem.* Vol. 96, p: 254–60.
- Lima M.H.M., Mahmoud J.G.E., Gasparetti A.L., Parisi M.C., Velloso LA. 2009. Ascorbic Acid For The Healing of Skin Wounds In Rats. *Journal of Investigative Dermatology* vol. 103, no. 2, p: 228-32.
- Lorentz, H. P., and Longaker, M. T. 2006. Wound Healing: Repair Biology and Wound and Scar Treatment in Mathes, S. J. and Hentz, V. R., *Plastic surgery Philadelphia: Saunders Elsevier*, p: 209-34.
- Lu, J., Wei, Y., Yuan, Q., 2007. Preparative Separation of Punicalagin From Pomegranate Husk by High-speed Countercurrent Chromatography. *Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 857, p: 175–9.
- Lu J., Yuan Q. 2008. A New Method For Ellagic Acid Production From Pomegranate Husk. *Journal of Food Process Engineering* 31, p: 443–54.
- Martin AA. 1996. The Use of Antioxidants in Healing. *Dermatological Surgery*, p: 156–60.

- Negi P.S., Jayaprakasha G.K. 2003. Antioxidant and Antibacterial Activities of *Punica granatum* Peel Extracts. Food Microbiology and Safety vol. 68, p: 1473–77.
- Regan M. C., Kirk S. J., Wasserkrug H. L., Barbul A. 1991. The Wound Environment As a Regulator of Fibroblast Phenotype. J. Surg. Res. Vol. 50, p: 442–8.
- Saputro I. D. 2011. Peran Ekstrak Delima Pada Regulasi Interleukin-6, Transforming Growth Factor Beta 1, Matrix Metalloproteinase-1 Dan Kolagen Tipe I Pada Luka Bakar. Studi Eksperimental Laboratorium, p: 48.
- Seeram N.P., Schulman R.N, Heber D. 2006. Pomegranate: Ancient Roots to Modern Medicine. USA: Taylor and Francis Group, LLC, p: 25-122.
- Shukla A., Rasik A.M., Jain G.K., Shankar R., Kulshrestha D.K., Dhawan, B.N. 1999. In Vitro and In Vivo Wound Healing Activity of Asiaticoside Isolated From *Centella asiatica*. J. Ethnopharmacology vol. 65,p: 1–11.
- Smith DJ, Thomson PD, Bolton LL, Hutchinson JJ. 2004. Microbiology and Healing of The Occluded Skin-graft Donor Site. Plast Reconst Surg vol. 91: 1094-7.
- Turkoglu A., Duru M.E., Mercan N., Kivrak I., Gezer K. 2007. Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. Food Chem. 101, p: 267–73.
- Vanstraelen. 1992. Comparison of Calcium Sodium Alginate (KALTOSTAT) and Porcine Xenograft (E-Z DERM) In The Healing of Split-thickness Skin Graft Donor Sites. Burns 18, p: 145–8.
- Villegas L.F., Fernandez I.D., Maldonado H., Torres R., Zavaleta A., Vaisberg A.J., Hammond G.B. 1997. Evaluation of The Wound Healing Activity of Selected Traditional Medicinal Plants From Perú. Journal Ethnopharmacology vol. 55, p: 193–200.
- Werner S and Grose R. 2003. Regulation of wound healing by growth factor and cytokines. Physiol Rev 83, p: 835-70.

Lampiran 1 : Hasil penghitungan jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen

Jumlah fibroblas per lapangan pandang

No .	Hari ke-3		Hari ke-10	
	Kontrol	Perlakuan	Kontrol	Perlakuan
1	18	18	17	16
2	14	16	22	14
3	20	13	18	12
4	10	16	26	19
5	10	15	20	18
6	18	18	18	18
7	12	22	18	16

Ketebalan kolagen dalam micrometer

No .	Hari ke-3		Hari ke-10	
	Kontrol	Perlakuan	Kontrol	Perlakuan
1	160	250	150	100
2	150	164	160	100
3	180	140	180	180
4	140	160	246	140
5	190	160	200	140
6	180	140	180	120
7	140	200	160	124

Lampiran 2 : Hasil analisis statistik pada pengamatan hari ke-3

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kolagen Kontrol	Fibroblast Kontrol	Kolagen Perlakuan	Fibroblast Perlakuan
N		7	7	7	7
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	162,8571	14,5714	173,4286	16,8571
	Std. Deviation	20,58663	4,11733	39,27195	2,85357
Most Extreme Differences	Absolute	,226	,226	,309	,202
	Positive	,162	,162	,309	,202
	Negative	-,226	-,226	-,197	-,115
Kolmogorov-Smirnov Z		,598	,598	,818	,533
Asymp. Sig. (2-tailed)		,867	,867	,515	,939

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Kolagen Perlakuan	173,4286	7	39,27195	14,84340
	Kolagen Kontrol	162,8571	7	20,58663	7,78102
Pair 2	Fibroblast Perlakuan	16,8571	7	2,85357	1,07855
	Fibroblast Kontrol	14,5714	7	4,11733	1,55620

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Kolagen Perlakuan - Kolagen Kontrol	10,57143	51,01260	19,28095	-36,60736	57,75022	,548	6	,603
Pair 2	Fibroblast Perlakuan - Fibroblast Kontrol	2,28571	5,43796	2,05536	-2,74356	7,31499	1,112	6	,309

Lampiran 3 : Hasil analisis statistik pada pengamatan hari ke-10

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kolagen Kontrol	Fibroblast Kontrol	Kolagen Perlakuan	Fibroblast Perlakuan
N		7	7	7	7
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	182,2857	19,8571	129,1429	16,1429
	Std. Deviation	32,70940	3,18479	27,78146	2,47848
Most Extreme Differences	Absolute	,242	,292	,205	,202
	Positive	,242	,292	,205	,125
	Negative	-,162	-,185	-,147	-,202
Kolmogorov-Smirnov Z		,641	,771	,543	,534
Asymp. Sig. (2-tailed)		,806	,591	,930	,938

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Kolagen Perlakuan	129,1429	7	27,78146	10,50040
	Kolagen Kontrol	182,2857	7	32,70940	12,36299
Pair 2	Fibroblast Perlakuan	16,1429	7	2,47848	,93678
	Fibroblast Kontrol	19,8571	7	3,18479	1,20374

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
				Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Kolagen Perlakuan - Kolagen Kontrol	-53,14286	31,78799	12,01473	-82,54184	-23,74387	-4,423	6	,004
Pair 2	Fibroblast Perlakuan - Fibroblast Kontrol	-3,71429	3,19970	1,20937	-6,67352	-,75505	-3,071	6	,022

Lampiran 4 : Hasil analisis statistik pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

General Linear Model

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
Kelompok	1,00	H3
	2,00	H10
		7
		7

Descriptive Statistics

	Kelompok	Mean	Std. Deviation	N
Kolagen Kontrol	H3	162,8571	20,58663	7
	H10	182,2857	32,70940	7
	Total	172,5714	28,12531	14
Fibroblast Kontrol	H3	14,5714	4,11733	7
	H10	19,8571	3,18479	7
	Total	17,2143	4,47521	14
Kolagen Perlakuan	H3	173,4286	39,27195	7
	H10	129,1429	27,78146	7
	Total	151,2857	39,95079	14
Fibroblast Perlakuan	H3	16,8571	2,85357	7
	H10	16,1429	2,47848	7
	Total	16,5000	2,59437	14

Multivariate Tests^b

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	,990	214,293 ^a	4,000	9,000	,000
	Wilks' Lambda	,010	214,293 ^a	4,000	9,000	,000
	Hotelling's Trace	95,241	214,293 ^a	4,000	9,000	,000
	Roy's Largest Root	95,241	214,293 ^a	4,000	9,000	,000
Kelompok	Pillai's Trace	,531	2,548 ^a	4,000	9,000	,112
	Wilks' Lambda	,469	2,548 ^a	4,000	9,000	,112
	Hotelling's Trace	1,132	2,548 ^a	4,000	9,000	,112
	Roy's Largest Root	1,132	2,548 ^a	4,000	9,000	,112

a. Exact statistic

b. Design: Intercept+Kelompok

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	Kolagen Kontrol	1321,143 ^a	1	1321,143	1,769	,208
	Fibroblast Kontrol	97,786 ^b	1	97,786	7,218	,020
	Kolagen Perlakuan	6864,286 ^c	1	6864,286	5,933	,031
	Fibroblast Perlakuan	1,786 ^d	1	1,786	,250	,626
Intercept	Kolagen Kontrol	416932,571	1	416932,571	558,249	,000
	Fibroblast Kontrol	4148,643	1	4148,643	306,227	,000
	Kolagen Perlakuan	320423,143	1	320423,143	276,932	,000
	Fibroblast Perlakuan	3811,500	1	3811,500	533,610	,000
Kelompok	Kolagen Kontrol	1321,143	1	1321,143	1,769	,208
	Fibroblast Kontrol	97,786	1	97,786	7,218	,020
	Kolagen Perlakuan	6864,286	1	6864,286	5,933	,031
	Fibroblast Perlakuan	1,786	1	1,786	,250	,626
Error	Kolagen Kontrol	8962,286	12	746,857		
	Fibroblast Kontrol	162,571	12	13,548		
	Kolagen Perlakuan	13884,571	12	1157,048		
	Fibroblast Perlakuan	85,714	12	7,143		
Total	Kolagen Kontrol	427216,000	14			
	Fibroblast Kontrol	4409,000	14			
	Kolagen Perlakuan	341172,000	14			
	Fibroblast Perlakuan	3899,000	14			
Corrected Total	Kolagen Kontrol	10283,429	13			
	Fibroblast Kontrol	260,357	13			
	Kolagen Perlakuan	20748,857	13			
	Fibroblast Perlakuan	87,500	13			

a. R Squared = ,128 (Adjusted R Squared = ,056)

b. R Squared = ,376 (Adjusted R Squared = ,324)

c. R Squared = ,331 (Adjusted R Squared = ,275)

d. R Squared = ,020 (Adjusted R Squared = -,061)

Lampiran 5 : Dokumentasi kegiatan penelitian

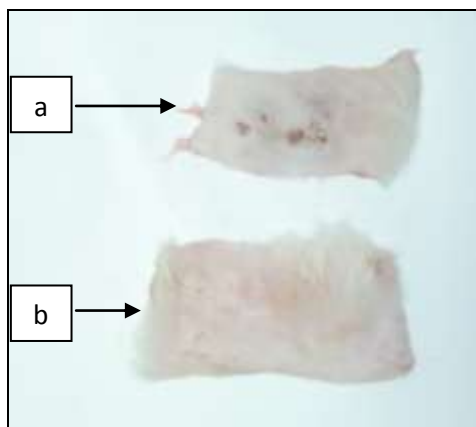
Persiapan hewan coba



Persiapan: pencukuran bulu punggung tikus dan desinfeksi.



Dua luka di punggung kanan dan kiri berukuran $\pm 2 \times 2$ cm. Punggung kanan dilakukan rawat luka dengan savlon 1:30 dan NaCl 0,9%, punggung kiri dilakukan rawat luka dengan ekstrak kulit delima,

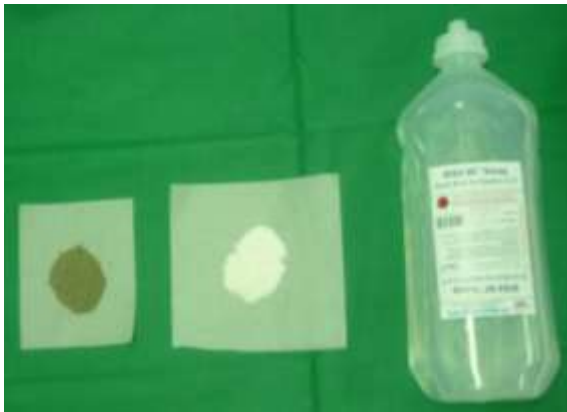


Spesimen diambil dari setiap luka (a = luka kontrol, b = luka perlakuan) dengan cara eksisi pada bekas luka donor *split thickness skin graft* di punggungnya dengan ukuran masing-masing spesimen sekitar $2,5 \times 2,5$ cm sampai sedalam fascia.

Proses pembuatan ekstrak kulit delima



Produk Xi'an Biof Bio-Technology Co., Ltd. (Room 1-1111, High-tech Venture Park, No. 69 Jinye Road, Gaoxin Distric of Xi'an, People Republic of China) terstandarisasi mengandung 40% *ellagic acid* (*Certificate of analysis* terlampir).



Ekstrak kulit delima seberat 2,5 gram disuspensikan dalam akuades panas 100 ml dengan *suspending agent sodium carboxy methyl cellulose* (CMC) 3%..



Ekstrak kulit delima

Lampiran 6 : Sertifikat analisis ekstrak kulit delima



XI'AN BIOF BIO-TECHNOLOGY CO., LTD CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name:Pomegranate extract Extract powder

Origin of Material: China

Part Used: Peel

Batch Number:BIOF20100811

Date of Manufacture:Aug 11, 2010

Quantity:300Kg

Date of Analysis:Aug 12, 2010

ANALYSIS	SPECIFICATION	RESULTS	Remark
Appearance	Light Yellow Powder	Complies	Visual
Odor	CHARACTERISTIC	Complies	
Assay Ratio			
Ellagic acid	40%	40.5% (HPLC)	
Sieve Analysis	100% pass 80 mesh	Complies	
solubility	water soluble	Complies	
solubility rate	≥95%	Complies	
Loss on Drying	≤5% .	3.73%	
Ash Content	≤2.00%	1.25%	
Sulphated Ash	≤5%	3.16%	
Extract Solvent	Water	Complies	
Sulphite Content	<100ppb	Complies	
Heavy Metal	<10ppm	Complies	
Pb	<0.5ppm	Complies	
Cadmium	<1ppm	Complies	
Lead	<3ppm		
Mercury	<3ppm	Complies	
Pesticide	<100ppb	Complies	
Microbiology			
Total Plate Count	≤1000cfu/g	Complies	
Yeast & Mold	≤100cfu/g	Complies	
E.Coli	Negative	Complies	
Salmonella	Negative	Complies	

Conclusion:

Conform with specification.

PackagingDescription

Sealed export grade drum & double of sealed plastic bag.

Storage:

ore in a cool dry place and keep away from strong light and heat.

Shelf life:

2 years when properly stored.

Lampiran 7 : Surat keterangan kelaikan etik

F.LITB.003




**KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
RSUD Dr. SOETOMO SURABAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
(" ETHICAL CLEARANCE ")**

250 / Panke.KKE / IX / 2013

**KOMITE ETIK RSUD Dr. SOETOMO SURABAYA TELAH MEMPELAJARI SECARA
SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI
MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN JUDUL :**

**"Pengaruh Pemberian Topikal Ekstrak Kulit Delima
Pada Penyembuhan Luka Donor *Split Thickness Skin Graft* Kulit Tikus"**

PENELITI UTAMA: Vini Thresianty Irene Prima Tanggo, dr

PENELITI LAIN : 1. Iswinarno Doso Saputro, dr., Sp.BP-RE(K)
2. Agus Santoso Budi, dr., Sp.BP-RE(K)

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN : RSUD Dr. Soetomo Surabaya

DINYATAKAN LAIK ETIK

SURABAYA, 24 SEP 2013



(Prof. Hari Sukanto, dr., Sp.KK (K))
NIP. 19471115 1973 03 1 001