

KARYA AKHIR

**PERAN TOPIKAL EKSTRAK GEL ALOE VERA
PADA PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DERAJAT DALAM
PADA TIKUS**



Oleh :

Taufiq Sakti Noer Hidayat, dr.

Pembimbing :

Prof. M. Sjaifuddin Noer, dr., Sp.B, Sp.BP-RE(K)

Sitti Rizaliyana, dr., SpBP-RE (K)

**DEPARTEMEN/SMF ILMU BEDAH PLASTIK
REKONSTRUKSI DAN ESTETIK
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA/
RSUD Dr. SOETOMO
SURABAYA
2013**

Prasyarat Gelar

**PERAN TOPIKAL EKSTRAK GEL ALOE VERA
PADA PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DERAJAT DALAM
PADA TIKUS**

Penelitian Eksperimental

Karya Akhir pada Program Studi Ilmu Bedah Plastik

Rekonstruksi dan Estetik

Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh :

Taufiq Sakti Noer Hidayat, dr.

Pembimbing :

Prof. M. Sjaifuddin Noer, dr., Sp.B, Sp.BP-RE(K)

Sitti Rizaliyana, dr., SpBP-RE (K)

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

2013

Lembar Pengesahan

1. Judul Penelitian : Peran Topikal Ekstrak Gel Aloe Vera pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat Dalam pada Tikus
2. Peneliti :
 - a. Nama : Taufiq Sakti Noer Hidayat, dr.
 - b. Jabatan: Peserta Program Pendidikan Dokter Spesialis I
 - c. Bagian : Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik

Telah disetujui oleh pembimbing pada tanggal 10 Nopember 2013 serta dipertahankan di depan penguji pada tanggal 22 Oktober 2013 dan dinyatakan memenuhi syarat

Menyetujui,
Pembimbing

<u>Prof. M. Sjaifuddin Noer, dr., Sp.B., Sp.BP-RE(K)</u>	<u>Sitti Rizaliyana, dr., Sp.BP-RE(K)</u>
NIP. 19470816 197612 1 001	NIP. 19720321 200801 2 005

Menyetujui,
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., SpBP-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 penulis ingin mengucapkan puji syukur kepada Tuhan yang telah memberikan kekuatan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tulisan ini yang berjudul “Peran Topikal Ekstrak Gel Aloe Vera pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat Dalam pada Tikus”. Tulisan ini disusun sebagai karya akhir penelitian peserta Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

Dalam penyusunan tulisan ini, penulis mendapat banyak bantuan berharga dari berbagai pihak. Untuk itu, sepatutnyalah penulis mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah memberikan arahan dan bantuan penulis 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. **dr. Dodo Anondo, 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 pembimbing penulis 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.
6. **Prof. Dr. David S. Perdanakusuma, dr., SpBP-RE(K)**, Ketua Program Studi Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya 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.

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 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.
8. **Sitti Rizaliyana, dr., SpBP-RE(K)**, staf Departemen / SMF Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya, atas segala dukungan, arahan, dan pembimbing saya dalam penelitian ini, atas segala arahan dan bimbingan kepada penulis selama menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
9. **Agus Santoso Budi, dr., SpBP-RE(K), Lobredia Zarasade. dr., SpBP-RE (KKF), Magda R. Hutagalung, dr., SpBP-RE(KKF) , Beta Subakti N dr., SpBP-RE, Lynda Hariani dr., SpBP-RE, Indri Lakhsmi Putri dr., SpBP-RE** dan 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. **Dr. Gondo Mastutik, drh., Mkes, Etty Hary Kusumastuti, dr., SpPA, MIAC**, atas bimbingan dan masukannya dalam pembacaan spesimen penelitian ini.
12. **Dr. Ali Usman, dr., SpA(K)** dan **Sri Agustanti Sumardikaningsih**, kedua orang tua saya tercinta, yang telah begitu banyak berkorban dan senantiasa memberikan dukungan, inspirasi, doa yang tiada putusnya serta cinta kasih kepada penulis sehingga penulis bisa menyelesaikan pendidikan ini dengan baik.
13. **Ade Sulistiani, S.Sos**, istri saya tercinta, yang senantiasa mendampingi saya dengan penuh pengertian, kesabaran dan kasih sayang serta pengorbanannya dalam memberikan semangat dan doa sehingga saya bisa menyelesaikan penelitian ini.
14. **Ibna Fatimah Noer Zahro**, anakku tersayang, yang senantiasa memberikan kasih sayang, pengorbanan dan pengertiannya selama saya menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/ RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
15. **Supangat** dan **Syarifah Secha**, kedua mertua saya tersayang, yang telah begitu banyak berkorban dan senantiasa memberikan dukungan, inspirasi, doa yang tiada putusnya serta cinta kasih kepada penulis sehingga penulis bisa menyelesaikan pendidikan ini dengan baik.

16. **Revita Widya Prasanti, dr.,** sebagai teman seperjuangan, dan **Alki Andana, dr., Taufik Akbar, dr.,** yang telah membantu dan mendukung dalam penelitian saya.
17. **Nur Febriany Nasser, dr., Almahitta Cintami Putri, dr., Vini Thresianty dr., Ulfa Elfiah dr., Badriyatut Dini dr.,** sebagai teman seperjuangan.
18. 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.
19. Sekretariat dan karyawan Departemen / SMF Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik, atas kerjasama, dukungan dan bantuan kepada penulis selama menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
20. Seluruh tenaga medis dan paramedis di IRD, OK GBPT, Burn Unit, URJ Bedah Plastik dan IRNA Bedah, atas segala kerjasama dan bantuannya selama penulis menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
21. Semua pihak yang namanya tidak dapat saya sebutkan satu persatu untuk segala dukungannya baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis ingin menyampaikan permohonan maaf yang sebesar-besarnya kepada seluruh pihak atas segala kesalahan dan kekhilafan tingkah laku dan tutur kata selama penulis 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, masih ada kekurangan di sana-sini. Oleh karena itu, kritik dan saran sangat diharapkan. Mudah-mudahan tulisan ini bermanfaat bagi kita semua.

Surabaya, November 2013

Penulis

Research

ROLE OF TOPICAL EXTRACT ALOE VERA GEL IN DEEP BURN WOUND HEALING IN RAT

(Experimental Study)

T.S.N. Hidayat, S. Rizaliyana, M.S. Noer

Department of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery
Airlangga University School of Medicine
Dr Soetomo General Hospital Surabaya

Abstract

Introduction: Burn injury is a common cause of morbidity and mortality. Outcomes of morbidity and disability for deep burns patients still not improved. Many modalities for wound bed preparation was not satisfied. Aloe vera gel have been used as an anti-inflammatory natural agent, for treatment many diseases. It has also been used in the traditional medicine of many cultures and said to be beneficial in the treatment of disorders such as burns.

Objective: The aim of this study is to formulate a topical cream from extract aloe vera gel with wound deep burn healing effect and to performed its in rat.

Methods: An experimental study. A total of 12 wistar rats in the age range of 3 month with deep burn wounds on their both backs will select for the study. The subjects used aloe vera gel topical formulation or moist conditions on each backs as the test and control, symmetrically. And then histopathological samplings will measure.

Results: A topical cream from extract aloe vera gel play a part in increase the number of lumen vessels at inflammatory phase significantly ($p < 0,05$). The number of macrophages, the number of fibroblast and collagen tickness at inflammatory phase and proliferation phase was increase notwithstanding not significant. A topical cream from extract aloe vera gel also has antiinflammatory effect.

Discussion: A topical cream from extract aloe vera gel play role in wound deep burn healing effect by increase of the number of lumen vessels, the number of macrophages, the number of fibroblast and collagen tickness at inflammatory phase and proliferation phase and also has antiinflammatory effect by push down of inflammatory reaction.

Keywords: *deep burn injury, extract aloe vera gel, wound healing, rat*

DAFTAR ISI

Sampul dalam.....	i
Prasyarat Gelar.....	ii
Lembar Pengesahan.....	iii
Ucapan Terima Kasih.....	iv
Abstrak.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR DIAGRAM.....	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Bagi Pengembangan Ilmu Pengetahuan	4
1.4.2 Manfaat Bagi Pelayanan Kesehatan	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Luka Bakar	6
2.2 Kedalaman Luka Bakar	9
2.3 Penyembuhan Luka Bakar.....	13
2.4 Luka Bakar pada Pembuluh Darah.....	23
2.5 Angiogenesis	24
2.6 Aloe Vera.....	26
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN.	33
3.1 Diagram Kerangka Konseptual	33
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual	34

3.3 Hipotesis Penelitian	37
BAB 4 METODE PENELITIAN	38
4.1 Jenis Penelitian	38
4.2 Variabel	38
4.2.1 Variabel Bebas	38
4.2.2 Variabel Tergantung	38
4.3 Sampel	38
4.4 Definisi Operasional Variabel	39
4.4.1 Ekstrak Gel Aloe Vera	39
4.4.2 Makrofag.....	40
4.4.3 Fibroblas	41
4.4.4 Kolagen.....	42
4.4.5 Angiogenesis.....	43
4.5 Bahan Penelitian.....	43
4.6 Prosedur Operasional Penelitian.....	45
4.7 Lokasi Penelitian	46
4.8 Kerangka Operasional Penelitian	47
4.9 Analisis dan Penyajian Data	47
4.10 Jadwal Waktu Penelitian	48
4.11 Anggaran Penelitian	48
BAB 5 HASIL PENELITIAN	49
5.1 Gambaran Klinis Luka Bakar	49
5.2 Gambaran Histologis Luka	50
5.3 Diagram Perbandingan Variabel Penelitian	55
5.4 Analisis Hasil Penelitian.....	59
BAB 6 PEMBAHASAN.....	64
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	72
DAFTAR PUSTAKA	73
Lampiran 1	79
Lampiran 2	84
Lampiran 3	85
Lampiran 4	91

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kategori kedalaman luka bakar di United States.....	9
Tabel 2.2 <i>Growth factors</i> , sitokin dan molekul biologis aktif dalam penyembuhan luka.....	22
Tabel 5.1 Rerata jumlah makrofag, jumlah fibroblast, ketebalan kolagen dan Jumlah lumen pembuluh darah pengamatan hari ke – 3	60
Tabel 5.2 Rerata jumlah makrofag, jumlah fibroblast, ketebalan kolagen dan Jumlah lumen pembuluh darah pengamatan hari ke - 10	61
Tabel 5.3 Rerata jumlah makrofag, jumlah fibroblast, ketebalan kolagen dan Jumlah lumen pembuluh darah pada kelompok perlakuan	62
Tabel 5.4 Rerata jumlah makrofag, jumlah fibroblast, ketebalan kolagen dan Jumlah lumen pembuluh darah pada kelompok kontrol	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Gambar skematis dan gambar klinis zona cedera pada luka bakar	9
Gambar 2.2	Gambar skematis dan gambar klinis luka bakar derajat I.....	10
Gambar 2.3	Gambar skematis dan gambar klinis luka bakar derajat IIa.....	11
Gambar 2.4	Gambar skematis dan gambar klinis luka bakar derajat IIb	11
Gambar 2.5	Gambar skematis dan gambar klinis luka bakar derajat III	12
Gambar 2.6	Gambar ilustrasi proses penyembuhan luka	13
Gambar 2.7	Fase penyembuhan luka, waktu dan sel karakteristik yang Tampak pada waktu tertentu	14
Gambar 2.8	Fase inflamasi penyembuhan luka.....	15
Gambar 2.9	Fase proliferasi penyembuhan luka	18
Gambar 2.10	Fase <i>remodeling</i> penyembuhan luka	20
Gambar 2.11	Skematik serial tahap perbaikan jaringan setelah terkena luka	25
Gambar 2.12	Potongan melintang daun Aloe Vera.....	27
Gambar 2.13	Representasi skematik struktur daun Aloe Vera	28
Gambar 2.14	Gel Aloe Vera yang telah dikupas.....	29
Gambar 2.15	Struktur kimia <i>acemannan</i>	30
Gambar 3.1	Kerangka konseptual	33
Gambar 5.1	Foto klinis luka bakar	50
Gambar 5.2.1	Gambaran histologis pengamatan hari ke – 3.....	50
Gambar 5.2.2	Gambaran histologis pengamatan hari ke – 10.....	51
Gambar 5.2.3	Gambaran histologis pengamatan jumlah makrofag	52
Gambar 5.2.4	Gambaran histologis pengamatan jumlah fibroblas	53
Gambar 5.2.5	Gambaran histologisketebalan serat kolagen	54
Gambar 5.2.6	Gambaran histologis jumlah lumen pembuluh darah.....	55

DAFTAR DIAGRAM

Diagram 5.1	Diagram perbandingan rerata jumlah makrofag	56
Diagram 5.2	Diagram perbandingan rerata jumlah fibroblas	57
Diagram 5.3	Diagram perbandingan rerata ketebalan kolagen	58
Diagram 5.4	Diagram perbandingan rerata jumlah lumen pembuluh darah .	59

DAFTAR SINGKATAN

MOF	: <i>Multi-system Organ Failure</i>
EPC	: <i>Endothelial Progenitor Cells</i>
CECs	: <i>Circulating Endothelial Cells</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
eNOS	: <i>Endothelial Nitric Oxide Synthase</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
IGF	: <i>Insulin-like Growth Factor</i>
PDGF	: <i>Platelet-derived Growth Factor</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor beta</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
TNF- α	: <i>Tumour Necrotizing Factor alpha</i>
INF- γ	: <i>Interferon Necrotizing Factor gamma</i>
LPS	: <i>Lipopolysacharida</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
MMP	: <i>Matrix Metalloproteinase</i>
KGF	: <i>Keratinocyte Growth Factor</i>
CSF	: <i>Colony Stimulating Factor</i>
PMN	: <i>Polymorphonuclear</i>
PAF	: <i>Platelet Activating Factor</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
GLA	: <i>Gamma-linolenic Acid</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>

HE : *Hematoxylin-eosin*
MT : *Masson's Trichome*

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 : Dokumentasi kegiatan penelitian.....	77
Lampiran 2 : Hasil penghitungan Patologi Anatomi.....	82
Lampiran 3 : Hasil analisis statistik.....	88
Lampiran 4 : Surat keterangan kelaikan etik.....	89

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka bakar bukan luka biasa. Luka bakar mempunyai dampak langsung terhadap perubahan lokal maupun sistemik tubuh yang tidak terjadi pada kebanyakan luka lain (Marzoeki, 2006). Cidera luka bakar dapat bervariasi dari luka kecil yang bisa ditangani di sebuah klinik rawat jalan, hingga cidera luas yang dapat menyebabkan *multi-system organ failure* (MOF) dan perawatan di rumah sakit yang memanjang (Klein, 2007). Kedalaman kerusakan jaringan akibat luka bakar tergantung pada derajat panas sumber luka bakar, penyebab luka bakar dan lamanya kontak dengan tubuh penderita (Noer, 2006). Luka bakar derajat dalam di RSUD Dr. Soetomo dalam evaluasi tahun 2007 hingga 2011 sekitar 26.2% (Hidayat dkk, 2012). Data tahun 2012 tercatat sebanyak 25 kasus luka bakar derajat dalam (23.8%) di rawat di *burn unit* RSUD Dr. Soetomo dari total 105 penderita luka bakar yang dirawat.

Penanganan dan perawatan luka bakar sampai saat ini masih memerlukan perawatan yang kompleks dan masih merupakan tantangan bagi kita (Noer, 2006). Morbiditas dan disabilitas akibat luka bakar dalam hingga saat ini masih tinggi (Barret, 1996), karena luka bakar derajat dalam berpotensi merupakan kejadian yang menghancurkan akibat efek yang dihasilkan terhadap kulit dan jaringan lainnya seperti pembuluh darah, pembuluh saraf, tendon dan tulang (Klein, 2007). Apabila masalah akut telah tertangani, perawatan selanjutnya memerlukan

preparasi *bed* luka yang cukup lama untuk sembuh dan modalitas yang tersedia untuk mempersiapkan *bed* luka hingga saat ini masih belum memuaskan.

Perawatan luka termasuk didalamnya perawatan luka bakar dilakukan dengan tujuan mencegah berlangsungnya degradasi luka dengan mengupayakan suasana kondusif untuk proses penyembuhan. Perawatan luka tertutup diyakini merupakan cara terbaik karena akan mencegah penguapan. Perawatan *moist* (*moist dressing*) akan memfasilitasi proses penyembuhan (Moenadjat, 2003; Herndorn, 2002). Suasana *moist* mempercepat proses re-epitelisasi. Suasana *moist* juga menstimulasi proliferasi dan migrasi sel epitel, memperbanyak aktivitas *growth factor* dan permukaan enzim proteolitik maupun membangun oksigen permukaan dan pengiriman nutrien (Field, 1995). Dengan mempertimbangkan keuntungan terapi luka dalam kondisi *moist* (*moist-state*), banyak praktisi yang mulai melakukan penelitian dengan tujuan mencari cara mempertahankan suasana *moist*. Salah satunya dengan menggunakan aloe vera (Marshall, 2000). Efek terapeutik aloe vera telah diujikan pada pencegahan iskemia kulit yang progresif yang disebabkan oleh luka bakar, cedera listrik, *frostbite*, flap sisi distal yang akan mati (*distal dying flap*) dan *intra-arterial drug abuse* pada manusia dan binatang percobaan. Analisa *in vivo* pada cedera tersebut diatas memperlihatkan bahwa mediator yang menyebabkan kerusakan jaringan yang progresif adalah tromboksan A2 (TxA2). Pendekatan terapi ini dengan menggunakan pencegahan kehilangan jaringan yang progresif pada setiap cedera dengan cara mengaktivasi produksi anti-TxA2 secara lokal. Aloe vera tidak hanya mengaktifkan TxA2 *inhibitor* tetapi juga mempertahankan homeostasis dalam vaskuler endotel dan jaringan disekitarnya (Heggers *et al*, 1993). Sargowo dkk tahun 2012 melakukan

penelitian pada tikus, gel aloe vera berpotensi sebagai kandidat terapi herbal penyembuhan luka diabetik melalui meningkatkan EPC *homing*, mengurangi jumlah CECs dan menstimulasi peningkatan level VEGF dan eNOS dimana hal ini membuktikan keterlibatannya sebagai faktor dominan pada proses angiogenesis.

Berdasarkan beberapa fakta di atas, meskipun masih memerlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kandungan aktif potensial pada aloe vera, tetapi gel aloe vera merupakan kandidat terapi penyembuhan secara herbal pada luka bakar derajat dalam. Penelitian ini ingin membuktikan peran terapi herbal gel aloe vera pada penyembuhan luka pada hewan coba yang terkena luka bakar derajat dalam dengan meningkatkan jumlah lumen pembuluh darah, jumlah makrofag, jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen pada luka bakar tikus wistar.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian topikal ekstrak gel aloe vera dapat meningkatkan jumlah lumen pembuluh darah pada luka bakar derajat dalam pada tikus wistar.
2. Apakah pemberian topikal ekstrak gel aloe vera dapat memperbanyak jumlah makrofag pada luka bakar derajat dalam pada tikus wistar.
3. Apakah pemberian topikal ekstrak gel aloe vera dapat menambah jumlah fibroblas pada luka bakar derajat dalam pada tikus wistar.
4. Apakah pemberian topikal ekstrak gel aloe vera dapat menambah ketebalan kolagen pada luka bakar derajat dalam pada tikus wistar.

5. Apakah peran topikal ekstrak gel aloe vera pada penyembuhan luka bakar derajat dalam pada tikus wistar.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan peran topikal ekstrak gel aloe vera pada penyembuhan luka bakar derajat dalam pada tikus wistar.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan bahwa pemberian topikal ekstrak gel aloe vera meningkatkan jumlah pembuluh darah pada luka bakar derajat dalam pada tikus wistar.
2. Membuktikan bahwa pemberian topikal ekstrak gel aloe vera memperbanyak jumlah makrofag pada luka bakar derajat dalam pada tikus wistar.
3. Membuktikan bahwa pemberian topikal ekstrak gel aloe vera menambah jumlah fibroblas pada luka bakar derajat dalam pada tikus wistar.
4. Membuktikan bahwa pemberian topikal ekstrak gel aloe vera menambah ketebalan kolagen pada luka bakar derajat dalam pada tikus wistar.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Pengembangan Ilmu Pengetahuan

1. Memperoleh bukti peran topikal ekstrak gel aloe vera pada penyembuhan luka bakar derajat dalam pada tikus wistar.
2. Memberikan dasar teori lebih lanjut untuk pengembangan penelitian pemberian ekstrak gel aloe vera yang berkaitan dengan percepatan penyembuhan luka bakar derajat dalam pada manusia.

1.4.2 Manfaat Bagi Pelayanan Kesehatan

1. Ekstrak gel aloe vera dapat digunakan secara topikal untuk memacu penyembuhan luka bakar derajat dalam.
2. Melalui pengembangan penelitian selanjutnya pada manusia, diharapkan dapat sebagai terapi alternatif berbiaya rendah dan mudah diakses untuk penderita yang mengalami luka bakar derajat dalam di masa depan.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Luka Bakar

Luka bakar adalah cedera sistemik yang kompleks mengikuti kulit yang terpapar energi panas. Mengikuti cedera panas, kulit mengalami tiga urutan fase cedera: cedera fisik, cedera biokimia dan respon penolakan jaringan nekrotik (Xu, 2004).

Fase cedera fisik meliputi cedera langsung dan tidak langsung. Segera setelah permukaan kulit terpapar sumber panas, cedera langsung yang dihasilkan adalah nekrosis dari kulit yang berhubungan, dimana disebut sebagai '*direct physical thermal injury*'. Meskipun sumber panas penyebab cedera langsung telah dihilangkan, panas tidak dapat hilang dengan segera dari kulit. Panas yang tersisa berlanjut menghasilkan efek panas yang kumulatif yang menyebabkan timbulnya cedera panas sekunder pada kulit. Cedera sekunder biasanya berlangsung sekitar 6-12 jam. Hal ini disebut sebagai '*indirect physical injury phase*' (Xu, 2004).

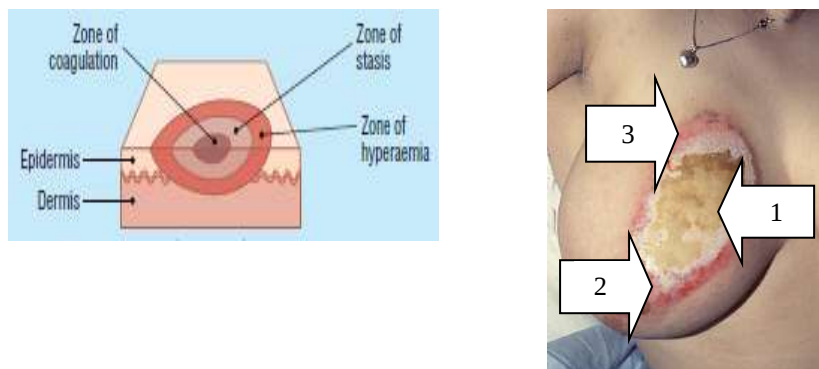
Cedera biokimia lokal dimulai dalam 1 jam sejak terkena panas dan sampai dengan kira-kira 72 jam pasca luka bakar. Hal ini berlangsung melalui fase reaksi biokimia panas dan fase reaksi radang biokimia pada urutan waktu. Pada 1-2 jam pasca cedera luka bakar, terjadi peningkatan permeabilitas kapiler yang signifikan pada jaringan yang cedera, meskipun jaringan masih sehat, berdekatan dengan jaringan nekrosis yang disebabkan oleh cedera panas langsung. Hal ini menghasilkan eksudasi cairan intravaskuler ke arah permukaan luka dan ruang interstisial selama iskemia jaringan terjadi. Secara bersamaan, jaringan yang

cidera tetapi masih sehat dan sel di daerah lesi, akan timbul edema dalam kaitannya dengan kelainan metabolik. Pada waktu bersamaan, kapiler yang permeabel melepas banyak substansi kimia dimana tidak hanya di daerah lokal cidera dan merusak daerah sekeliling yang tidak cidera, tetapi juga hasil cidera yang sistemik sesudah itu. Meskipun hal ini tidak diketahui dengan pasti apa substansi kimia tersebut, tampak didalamnya adalah histamin, 5-HT, ion hidrogen, kinin, bradikinin dan lainnya. Fase ini disebut sebagai '*thermal biochemical reaction phase*'. Dalam 2 jam kemudian, reaksi biokimia panas berlanjut mempengaruhi jaringan sehat di daerah cidera menyebabkan rangkaian reaksi radang. Permulaan reaksi patologik radang pada daerah cidera mungkin dihasilkan pada cidera patologik yang spektrum penuh. Sebagai contoh, reaksi radang mengaktivasi sistem koagulasi darah untuk mempengaruhi trombosis mikrosirkulasi yang progresif, dimana mungkin menyebabkan nekrosis pada cidera tetapi juga jaringan sehat dan mungkin juga menghasilkan pada iskemik dan nekrosis *anoxic* pada jaringan yang tidak cidera disekitarnya. Proses ini mungkin berakhir dalam 72 jam pasca luka bakar dan proses ini disebut sebagai '*biochemical inflammatory reaction phase*' (Xu, 2004).

Dalam 72 jam pasca luka bakar, jaringan luka memasuki fase reaksi penolakan, dimana respon jaringan sehat yang menyebabkan kehancuran dari jaringan nekrosis dan sel pada daerah lesi yang berhubungan. Biasanya bercampur dan luas, proses reaksi ini utamanya terkandung tiga patogenesis: (1) disintegrasi histiosit nekrotik pada cidera yang berhubungan; (2) regenerasi histiosit sehat daerah lesi yang berhubungan; (3) infeksi mikroba pada cidera yang berhubungan. Disamping reaksi radang, disintegrasi histiosit nekrotik mungkin mempengaruhi

pencairan sel pada cedera yang berhubungan dan sangat penting, akumulasi hasil pencairan sel berlanjut dengan bertambahnya jaringan cedera. Sementara itu, sisa jaringan sehat pada cedera yang berhubungan mulai regenerasi dengan sendirinya ketika jaringan yang rusak menjadi substansi yang destruktif yang tidak menguntungkan bagi lingkungan untuk regenerasi sel, dengan demikian dapat mempengaruhi inflamasi yang serius. Kombinasi dua patogenesis diatas mengganggu habitat flora normal di kulit dan menyebabkan destruksi mikroba di daerah cedera, dimana keduanya selanjutnya akan menyebabkan kerusakan menjadi lebih buruk dan mungkin suatu saat menghasilkan cedera sistemik. Proses ini disebut sebagai '*rejection injury of necrotic tissues*' dan ini adalah akhir dari cedera primer pada luka bakar (Xu, 2004).

Secara histopatologik, cedera luka bakar mempunyai tiga karakteristik area yang terlibat. Area pertama adalah zona koagulasi, yang terletak dekat dengan sumber panas dan meliputi jaringan mati yang membentuk eskar luka bakar. Area kedua adalah zona stasis, yang terletak di dekat area nekrosis, dimana area ini viabel tapi beresiko untuk mengalami nekrosis dan kerusakan iskemik karena gangguan perfusi. Area ketiga adalah zona hiperemi, yang meliputi kulit yang relatif sehat dengan peningkatan aliran darah dan vasodilatasi sebagai respon terhadap cedera dan kerusakan seluler pada area ini minimal. Ketiga area tersebut berbentuk tiga dimensi, maka apabila terjadi kehilangan jaringan pada zona stasis maka luka akan semakin dalam dan luas. Jika tidak ada cedera sekunder, maka tiga zona tersebut akan tetap pada proses yang natural (Xu, 2004; Murray, 2008) (gambar 2.1).



Gambar 2.1 Gambar skematis dan gambar klinis zona cedera pada luka bakar:
1.Zona koagulasi; 2. Zona stasis; 3. Zona hiperemia
(Diambil dari Hettiaratchy, Dziewulski, 2004. *ABC of burns*)

2.2 Kedalaman luka bakar

Kedalaman kerusakan jaringan akibat luka bakar tergantung pada derajat panas sumber luka bakar, penyebab luka bakar dan lamanya kontak dengan tubuh penderita (Noer, 2006). Kedalaman luka bakar terbagi menjadi 3 derajat, sementara di Amerika terbagi menjadi 4 derajat (tabel 2.1).

Tabel 2.1 Katagori Kedalaman Luka Bakar Di United States

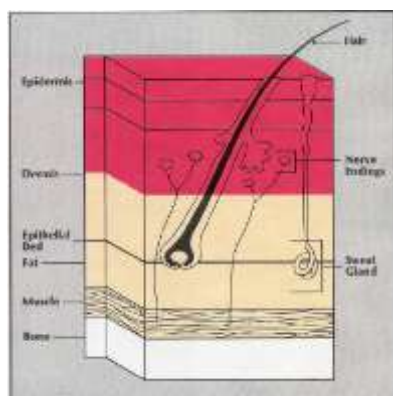
Derajat Luka Bakar	Penyebab	Gambaran Luka	Warna	Level Nyeri
Satu (<i>superficial</i>)	Cahaya api, ultraviolet (terbakar sinar matahari)	Kering, tidak melepuh, tidak atau edema minimal	Eritema	Nyeri
Dua (<i>partial thickness</i>)	Kontak dengan cairan panas atau benda padat panas, pakaian terbakar, api langsung, zat kimia, ultraviolet	Bleb lembab, melepuh	Burik putih hingga merah muda, merah jambu	Sangat nyeri
Tiga (<i>full thickness</i>)	Kontak dengan cairan panas atau benda padat panas, api, zat kimia, listrik	Kering dengan eskar yang keras hingga debridement, tampak pembuluh darah yang gosong dibawah eskar	Campuran putih, seperti lilin, seperti mutiara, gelap, kepar, mahoni, gosong	Sedikit nyeri atau tidak nyeri, rambut mudah tercabut
Empat (termasuk struktur jaringan dibawahnya)	Kontak lama dengan api, listrik	Sama dengan derajat tiga, mungkin tampak tulang, otot, tendon	Sama dengan derajat tiga	Sama dengan derajat tiga

(Diambil dari Klein, 2007. *Grabb and Smith's Plastic Surgery. 6th ed.*)

Pembagian derajat kedalaman luka bakar yang digunakan di RSUD Dr. Soetomo adalah luka bakar derajat I (superfisial), luka bakar derajat II (*partial thickness*) dan luka bakar derajat III (*full thickness*) (Noer, 2006).

Luka bakar derajat I (superfisial) adalah luka bakar dengan kerusakan terbatas pada lapisan epidermis (superfisial), kulit hiperemis berupa eritema, tidak ditemukan *bullae*, terasa nyeri karena ujung saraf sensorik teriritasi. Penyembuhan terjadi secara spontan tanpa pengobatan khusus (gambar 2.2).

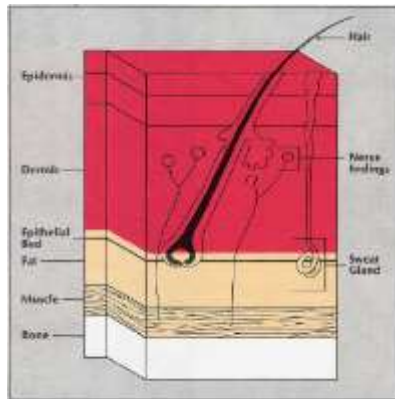
Luka bakar derajat II (*partial thickness*) adalah luka bakar dengan kerusakan mengenai epidermis dan sebagian dermis, berupa reaksi inflamasi disertai proses eksudasi. Terdapat *bullae*, nyeri karena ujung saraf sensorik teriritasi. Luka bakar derajat II dibedakan menjadi 2 bagian, yaitu derajat IIa (*superficial partial thickness*) dan derajat IIb (*deep partial thickness*).



Gambar 2.2 Gambar skematik dan gambar klinis luka bakar derajat I. Kulit masih intak, warna kemerahan, tidak ditemukan *bullae*, terasa nyeri (Diambil dari Malick, Carr, 1982; Hettiaratchy, Dziewulski, 2004)

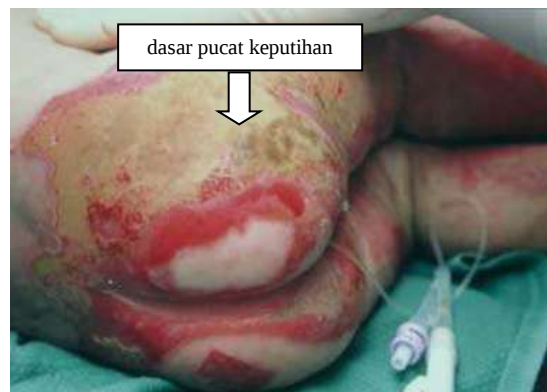
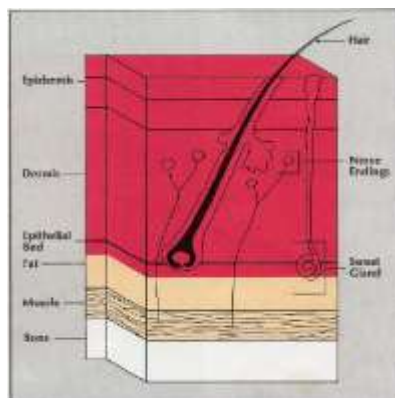
Luka bakar derajat IIa (*superficial partial thickness*) adalah luka bakar dengan kerusakan mengenai bagian epidermis dan lapisan atas dari corium/dermis. Organ kulit seperti folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar

sebacea masih banyak. Semua ini merupakan benih epitel. Penyembuhan terjadi secara spontan dalam waktu 10-14 hari tanpa terbentuk sikatrik (gambar 2.3).



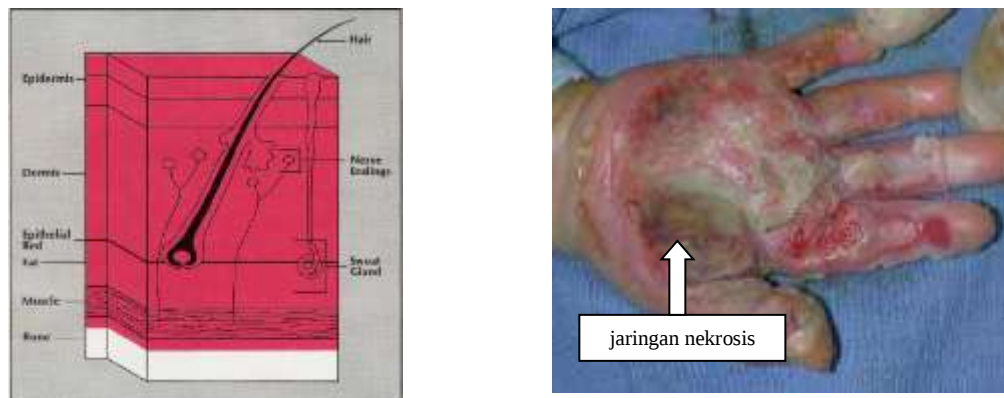
Gambar 2.3 Gambar skematik dan gambar klinis luka bakar derajat IIa. Luka dengan dasar warna kemerahan, tampak *bullae*, terasa sangat nyeri (Diambil dari Malick, Carr, 1982; Hettiaratchy, Dziewulski, 2004)

Derajat IIb (*deep partial thickness*) adalah luka bakar dengan kerusakan mengenai hampir seluruh bagian dermis dan sisa jaringan epitel tinggal sedikit. Organ kulit seperti folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar sebacea tinggal sedikit. Penyembuhan terjadi lebih lama dan disertai parut hipertropik (gambar 2.4).



Gambar 2.4 Gambar skematik dan gambar klinis luka bakar derajat IIb. Luka dengan dasar pucat keputihan, tampak *bullae*, terasa kurang nyeri (Diambil dari Malick, Carr, 1982; Hettiaratchy, Dziewulski, 2004)

Luka bakar derajat III (*full thickness*) adalah luka bakar dengan kerusakan mengenai seluruh tebal kulit dan lapisan yang lebih dalam sampai mengenai jaringan subkutis, lemak, otot, tendon dan tulang. Organ kulit mengalami kerusakan, tidak ada tersisa elemen epitel. Pembuluh darah mengalami trombosis. Tidak ditemukan *bullae*, kulit yang terbakar berwarna abu-abu dan lebih pucat sampai berwarna hitam kering. Terjadi koagulasi protein pada epidermis dan dermis yang dikenal sebagai eskar. Tidak dijumpai rasa nyeri dan hilang sensasi karena ujung saraf sensorik rusak. Penyembuhan terjadi lama karena tidak terjadi epitelisasi spontan. (gambar 2.5).

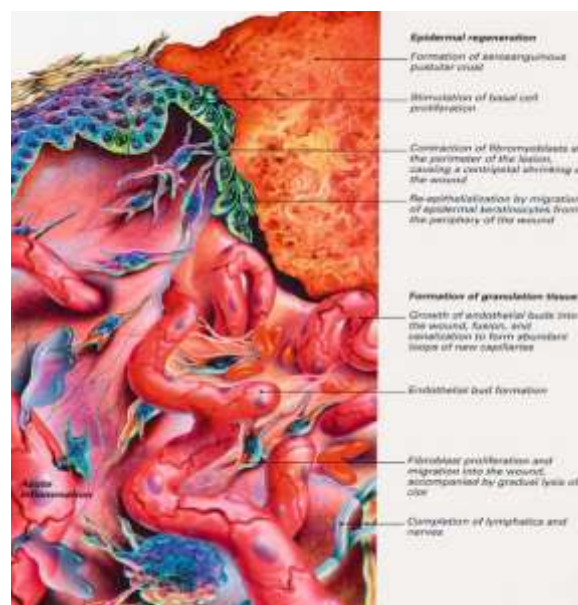


Gambar 2.5 Gambar skematik dan gambar klinis luka bakar derajat III. Tampak kulit nekrosis. Dasar luka kehitaman. Tidak terasa nyeri. Kadang tampak jaringan dibawah kulit seperti tendon, otot, tulang. (Diambil dari Mallick, Carr, 1982; Hettiaratchy, Dziewulski, 2004)

Cidera listrik *true high tension* terjadi pada tegangan 1000 volt atau lebih besar merupakan penyebab luka bakar derajat dalam (derajat III) yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang luas dan selalu kehilangan anggota badan. Biasanya terjadi nekrosis jaringan baik jaringan lunak maupun tulang (Hettiaratchy, Dziewulski, 2004).

2.3 Penyembuhan Luka Bakar

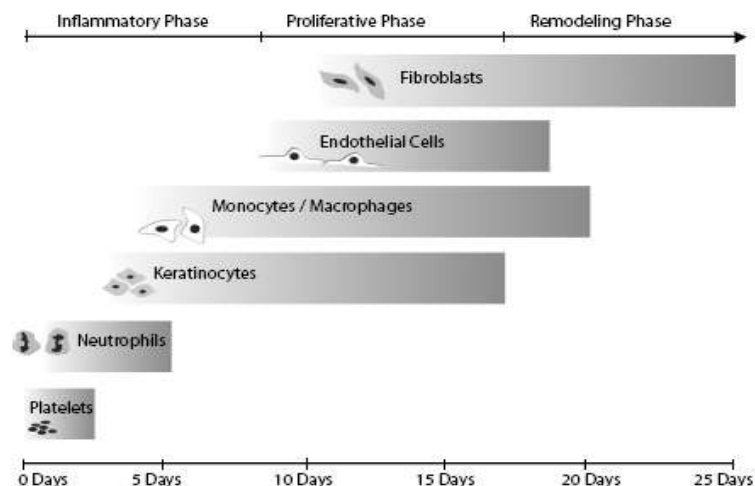
Penyembuhan pada luka bakar mengalami proses seperti halnya proses penyembuhan luka pada umumnya. Fase inflamasi adalah keadaan dimana terjadi reaksi hemostasis segera setelah terjadinya luka. Komponen hemostasis ini akan melepaskan dan mengaktifkan sitokin yang meliputi *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Insulin-like Growth Factor* (IGF), *Platelet-derived Growth Factor* (PDGF) dan *Transforming Growth Factor beta* (TGF- β) yang berperan untuk terjadinya *neutrophil chemotaxis*, makrofag, *mast cell*, sel endotel dan fibroblas. Selanjutnya proses penyembuhan mengalami fase proliferasi atau fibroplasi. Pada luka bakar terjadi pemanjangan fase inflamasi yang akan meningkatkan aktivitas sitokin fibrogenik seperti TGF- β dan IGF-1. Hal ini menyebabkan pada fase fibroplasi penyembuhan luka dimana secara normal terjadi aktivitas fibroblas untuk mensintesa kolagen akan lebih meningkat aktivitasnya (Perdanakusuma, 2006).



Gambar 2.6 Gambar ilustrasi proses penyembuhan luka
(Diambil dari Shai, Maibach, 2005. *Wound Healing and Ulcers of the Skin*)

Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang kompleks, yang melibatkan respon seluler dan biokimia baik secara lokal maupun sistemik (gambar 2.6) (Rohrich, Robinson, 1999). Ada tiga fase dalam proses penyembuhan luka, dimana ketiganya saling tumpang tindih, yaitu fase inflamasi, proliferasi dan *remodeling* (Lorenz, Longaker, 2006).

Pada setiap fase penyembuhan tersebut terdapat satu jenis sel khusus yang mendominasi (gambar 2.7). Fase awal yakni fase inflamasi dimulai segera setelah terjadinya suatu cedera, dengan tujuan untuk menyingkirkan jaringan mati dan mencegah infeksi. Fase proliferasi berlangsung kemudian, di mana akan terjadi keseimbangan antara 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 *remodeling* yang bertujuan untuk memaksimalkan kekuatan dan integritas struktural dari luka (Gurtner, 2007).

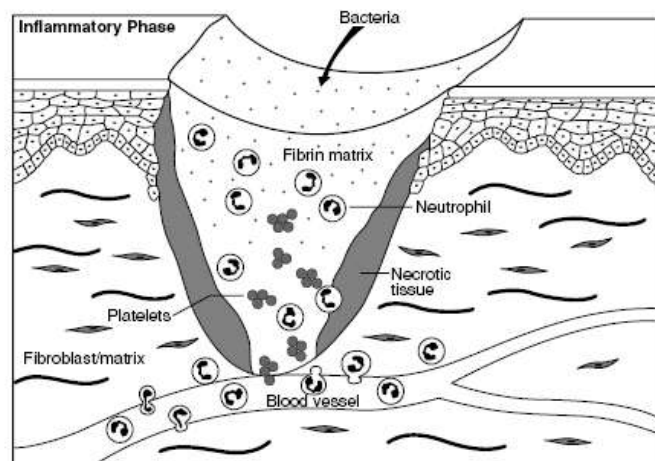


Gambar 2.7 Fase penyembuhan luka, waktu dan sel karakteristik yang tampak pada waktu tertentu (Diambil dari Gurtner, 2007. *Grabb and Smith's Plastic Surgery. 6th ed.*).

Pembagian fase penyembuhan luka pada respon normal mamalia yang mengalami defek akibat kerusakan integritas kulit yang terjadi adalah fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi.

2.3.1 Fase inflamasi (*lag phase*)

Pada fase inflamasi terjadi proses hemostasis yang cepat dan dimulainya suatu siklus regenerasi jaringan (Lorenz, Longaker, 2006). Fase inflamasi dimulai segera setelah cidera sampai hari ke-5 pasca cidera. Tujuan utama fase ini adalah hemostasis, hilangnya jaringan yang mati dan pencegahan kolonisasi maupun infeksi oleh agen mikrobial patogen (Gurtner, 2007).



Gambar 2.8 Fase inflamasi (Diambil dari Gurtner, 2007. *Grabb and Smith's Plastic Surgery*. 6th ed.)

Komponen jaringan yang mengalami cidera, meliputi *fibrillar collagen* dan *tissue factor*, akan mengaktivasi jalur koagulasi ekstrinsik dan mencegah perdarahan lebih lanjut pada fase ini (gambar 2.8). Pembuluh darah yang cidera mengakibatkan termobilisasinya berbagai elemen darah ke lokasi luka. Agregasi platelet akan membentuk plak pada pembuluh darah yang cidera. Selama proses

ini berlangsung, platelet akan mengalami degranulasi dan melepaskan beberapa *growth factor*, seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF) dan *transforming growth factor- β* (TGF- β). Hasil akhir kaskade koagulasi jalur intrinsik dan ekstrinsik adalah konversi fibrinogen menjadi fibrin (Gurtner, 2007).

Berbagai mediator inflamasi yakni prostaglandin, *interleukin-1* (IL-1), *tumor necrotizing factor* (TNF), C5a, TGF- β dan produk degradasi bakteri seperti lipopolisakarida (LPS) akan menarik sel netrofil sehingga menginfiltrasi matriks fibrin dan mengisi kavitas luka. Migrasi netrofil ke luka juga dimungkinkan karena peningkatan permeabilitas kapiler akibat terlepasnya serotonin dan histamin oleh *mast cell* 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, Barbul, 1994; Gurtner, 2007).

Makrofag juga akan mengikuti netrofil menuju luka setelah 48-72 jam dan menjadi sel predominan setelah hari ke-3 pasca cedera. 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).

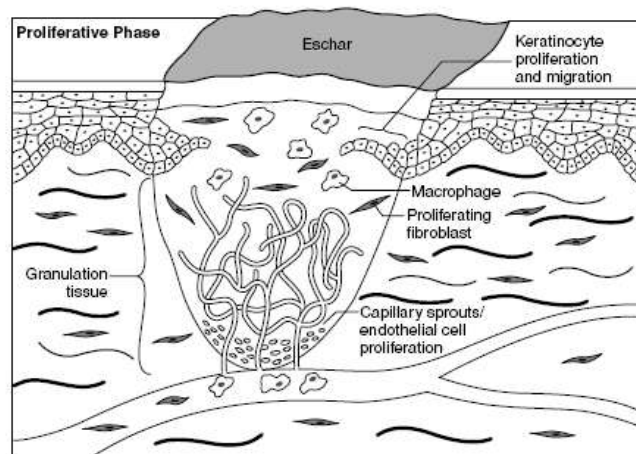
Limfosit dan *mast cell* merupakan sel terakhir yang bergerak menuju luka dan dapat ditemukan pada hari ke-5 sampai ke-7 pasca cedera. Peran keduanya masih belum jelas hingga saat ini (Gurtner, 2007).

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 fibronektin (Regan, Barbul, 1994).

Sel punca mesenkim akan bermigrasi ke luka, membentuk sel baru untuk regenerasi jaringan baik tulang, kartilago, jaringan fibrosa, pembuluh darah, maupun jaringan lain. Fibroblas akan bermigrasi ke luka dan mulai berproliferasi menghasilkan matriks ekstraseluler. Sel endotel pembuluh darah di daerah sekitar luka akan berproliferasi membentuk kapiler baru untuk mencapai daerah luka. Ini akan menandai dimulainya proses angiogenesis. Pada akhir 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 (Anderson, 2000).

2.3.2 Fase proliferasi (fibroplasi, regenerasi)

Fase proliferasi berlangsung mulai hari ke-4 hingga hari ke-21 pasca cedera. Keratinosit yang berada pada tepi luka sesungguhnya telah mulai bekerja beberapa jam pasca cedera, 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 (gambar 2.9) (Gurtner, 2007).



Gambar 2.9 Fase proliferasi (Diambil dari Gurtner, 2007. *Grabb and Smith's Plastic Surgery*. 6th ed.)

Faktor setempat seperti *growth factor*, sitokin, hormon, nutrisi, pH dan tekanan oksigen sekitar menjadi perantara dalam proses diferensiasi sel punca (Anderson, 2000). Regresi jaringan desmosom antar keratinosit mengakibatkan terlepasnya keratinosit untuk bermigrasi ke daerah luka. Keratinosit juga bermigrasi secara aktif karena terbentuknya filamen aktin di dalam sitoplasma keratinosit. Keratinosit bermigrasi akibat interaksinya dengan protein sekretori seperti fibronektin, vitronektin dan kolagen tipe I melalui perantara integrin spesifik di antara matriks temporer. Matriks temporer ini akan digantikan secara bertahap oleh jaringan granulasi yang kaya akan fibroblas, makrofag dan sel endotel. Sel tersebut akan membentuk matriks ekstraseluler dan pembuluh darah baru. Jaringan granulasi umumnya mulai dibentuk pada hari ke-4 setelah cedera (Lorenz, Longaker, 2006).

Fibroblas merupakan sel utama selama fase ini dimana ia menyediakan kerangka untuk migrasi keratinosit. Makrofag juga akan menghasilkan *growth factor* seperti PDGF dan TGF- β yang akan menginduksi fibroblas untuk

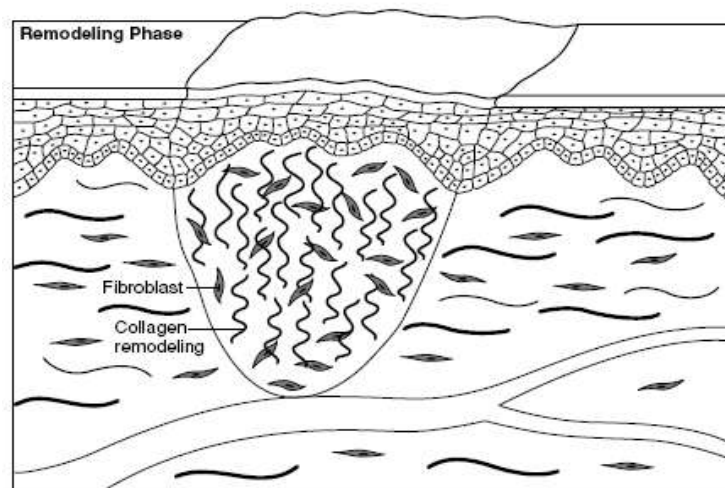
berproliferasi, migrasi dan membentuk matriks ekstraseluler. Matriks temporer ini secara bertahap akan digantikan oleh kolagen tipe III. Sel endotel akan membentuk pembuluh darah baru dengan bantuan protein sekretori VEGF, FGF dan TSP-1. Pembentukan pembuluh darah baru dan jaringan granulasi merupakan tanda penting fase proliferasi karena ketiadaannya pembuluh darah baru dan atau jaringan granulasi merupakan tanda dari gangguan penyembuhan luka. Setelah kolagen mulai menggantikan matriks temporer, fase proliferasi mulai berhenti dan fase *remodeling* mulai berjalan (Gurtner, 2007).

Faktor proangiogenik yang diproduksi makrofag seperti *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *fibroblas growth factor* (FGF)-2, *angiopoietin-1* dan *thrombospondin* akan menstimulasi sel endotel membentuk neovaskular melalui proses angiogenesis. Hal yang menarik dari fase proliferasi ini adalah bahwa pada suatu titik tertentu, seluruh proses yang telah dijabarkan di atas harus dihentikan. Fibroblas akan segera menghilang segera setelah matriks kolagen mengisi kavitas luka dan pembentukan neovaskular akan menurun melalui proses apoptosis. Kegagalan regulasi pada tahap inilah yang hingga saat ini dianggap sebagai penyebab terjadinya kelainan fibrosis seperti jaringan parut hipertrofik (Gurtner, 2007).

2.3.3 Fase maturasi (*remodeling*)

Fase ketiga dan terakhir adalah fase *remodeling*. Selama fase ini jaringan baru yang terbentuk akan disusun sedemikian rupa seperti jaringan asalnya. Fase maturasi ini berlangsung mulai hari ke-21 hingga sekitar 1 tahun. Fase ini segera 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. Fase akhir penyembuhan luka ini dapat berlangsung selama bertahun-tahun (gambar 2.10) (Gurtner, 2007).



Gambar 2.10 Fase remodeling (Diambil dari Gurtner, 2007. *Grabb and Smith's Plastic Surgery*. 6th ed).

Kontraksi dari luka dan *remodeling* kolagen terjadi pada fase ini. Kontraksi luka terjadi akibat aktivitas miofibroblas, yakni fibroblas yang mengandung komponen mikrofiliamen aktin intraselular. Kolagen tipe III pada fase ini secara gradual digantikan oleh kolagen tipe I dengan bantuan *matrix metalloproteinase* (MMP) yang disekresi oleh fibroblas, makrofag dan sel endotel. Sekitar 80% kolagen pada kulit adalah kolagen tipe I yang memungkinkan terjadinya *tensile strength* pada kulit (Gurtner, 2007).

Keseimbangan antara proses sintesis dan degradasi kolagen terjadi pada fase ini. Kolagen yang berlebihan didegradasi oleh enzim kolagenase dan kemudian diserap. Sisanya akan mengerut sesuai tegangan yang ada. Hasil akhir

dari fase ini berupa jaringan parut yang pucat, tipis, lemas dan mudah digerakkan dari dasarnya (Bisono, Pusponegoro, 1997).

Kolagen awalnya tersusun secara tidak beraturan, sehingga membutuhkan *lysyl hydroxylase* untuk mengubah lisin menjadi hidroksilisin yang dianggap bertanggung jawab terhadap terjadinya *cross-linking* antar kolagen. *Cross-linking* inilah yang menyebabkan terjadinya *tensile strength* sehingga luka tidak mudah terkoyak lagi. *Tensile strength* akan bertambah secara cepat dalam 6 minggu pertama, kemudian akan bertambah perlahan selama 1-2 tahun. Pada umumnya *tensile strength* pada kulit dan *fascia* tidak akan pernah mencapai 100%, namun hanya sekitar 80% dari normal (Marzoeki, 1993; Schultz, 2007).

Metaloproteinase matriks yang disekresi oleh makrofag, fibroblas dan sel endotel akan mendegradasi kolagen tipe III. Kekuatan jaringan parut bekas luka akan semakin meningkat akibat berubahnya tipe kolagen dan terjadinya *cross-linking* jaringan kolagen. Pada akhir fase *remodeling*, jaringan baru hanya akan mencapai 70% kekuatan jaringan awal (Gurtner, 2007).

Berbagai mediator atau sitokin yang turut berperan pada penyembuhan luka dapat dilihat pada tabel 2.2.

Tabel 2.2 *Growth factors*, sitokin dan molekul biologis aktif dalam penyembuhan luka
(Diambil dari Gurtner, 2007. *Grabb and Smith's Plastic Surgery. 6th ed*) :

Nama	Singkatan	Sumber	Deskripsi
<i>Vascular endothelial growth factor</i>	VEGF	Sel endotel	Memicu angiogenesis.
<i>Fibroblast growth factor-2</i>	FGF-2	Makrofag, sel mast, sel endotel, limfosit T	Memicu angiogenesis. Menstimulasi migrasi dan pertumbuhan sel endotel.
<i>Keratinocyte growth factor</i>	KGF	Fibroblas	Mengontrol pertumbuhan dan maturasi keratinosit. Menginduksi sekresi epitel dan <i>growth factor</i> lain.
<i>Epidermal growth factor</i>	EGF	Platelet, makrofag	Menstimulasi sekresi kolagenase oleh fibroblas untuk <i>remodeling</i> matriks.
<i>Transforming growth factor-β</i>	TGF-β	Platelet, makrofag, sel T dan B, hepatosit, timosit, plasenta	Memicu angiogenesis. Sebagai <i>chemoattractant</i> , menginduksi ekspresi molekul adesi dan memicu molekul pro inflamasi yang menstimulasi migrasi leukosit dan fibroblas.
<i>Tumor necrotizing factor-α</i>	TNF-α	Makrofag, sel T dan B, <i>natural killer (NK) cells</i>	Menginduksi sintesa MMP. Meregulasi marginasi dan sitotoksitas leukosit PMN.
<i>Granulocyte colony-stimulating factor</i>	G-CSF	Sel stroma, fibroblas, sel endotel, limfosit	Menstimulasi proliferasi, <i>survival</i> , maturasi dan aktivasi granulosit.
<i>Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i>	GM-CSF	Makrofag, sel stroma, fibroblas, sel endotel, limfosit	Menstimulasi proliferasi, <i>survival</i> , maturasi dan aktivasi granulosit dan makrofag. Menginduksi <i>granulopoiesis</i> .
<i>Interferon-α</i>	IFN-α	Makrofag, sel B dan T, fibroblas, sel epitel	Aktivasi makrofag, menghambat proliferasi fibroblas.
<i>Interleukin-1</i>	IL-1	Makrofag, keratinosit, sel endotel, limfosit, fibroblas, osteoblas	Peptida pro inflamasi. Menginduksi kemotaksis leukosit PMN, fibroblas dan keratinosit. Mengaktivasi leukosit PMN.
<i>Interleukin-4</i>	IL-4	Sel T, basofil, sel mast, sel stroma sumsum tulang	Mengaktivasi proliferasi fibroblas. Menginduksi sintesa kolagen dan proteoglikan.
<i>Interleukin-8</i>	IL-8	Monosit, netrofil, fibroblas, sel endotel, keratinosit, sel T	Mengaktivasi leukosit PMN dan makrofag untuk memulai kemotaksis. Menginduksi marginasi dan maturasi keratinosit.
<i>Endothelial nitric oxide synthase</i>	eNOS	Sel endotel, neuron	Sintesis <i>nitric oxide</i> pada sel endotel.
<i>Inducible nitric oxide synthase</i>	iNOS	Netrofil, sel endotel	Sintesis <i>nitric oxide</i> oleh makrofag dan keratinosit basal.

2.4 Luka bakar pada pembuluh darah

Cidera termis akan diikuti kerusakan endotel. Pelepasan histamin menyusul suatu bentuk cidera akan mengaktivasi leukosit PMN dan terjadi adesi leukosit pada endotel (Nelson et al, 1987; Warden et al, 1974; Mileski et al, 1992). Kerusakan jaringan lokal pada luka bakar merangsang pelepasan berbagai mediator pro-inflamasi seperti sitokin. Sitokin adalah pembawa pesan fisiologis dari suatu bentuk respons inflamasi, berperan pada proses penyembuhan luka dan mengarahkan sel-sel retikulo-endotel. Komponen utamanya antara lain interleukin (IL1, IL6), *tumour necrotizing factor* (TNF α) *interferon*, *colony stimulating factor* (CSF). Efektor seluler dari respons inflamasi (sel-sel yang menghasilkan sitokin dan mediator-mediator inflamasi lain) ini adalah sel leukosit PMN (*polymorphonuclear*), monosit, makrofag dan sel endotel. Sel endotel melepaskan molekul adesi dan reseptor untuk sitokin maupun mediator inflamasi sekunder seperti prostaglandin, leukotrien, tromboksan, *platelet activating factor* (PAF), radikal bebas, *nitric oxide* (NO), protease (katepsin, elastase). Endotel teraktivasi dan lingkungan yang kaya sitokin mengaktifkan kaskade koagulasi sehingga terjadi trombosis lokal. Hal ini bertujuan mengurangi kehilangan darah melalui luka, disamping itu timbul efek pembatasan (*walling off*) jaringan cidera sehingga secara fisiologis daerah inflamasi terisolasi (Moenadjat, 2003).

Endothelial progenitor cells (EPCs) berperan penting pada proses re-endotelisasi pada kerusakan pembuluh darah yang disebabkan iskemia. EPCs berpotensi memperbesar perbaikan endotel melalui *homing* ke dalam endotel yang rusak dan dapat mempertahankan integritas endotel. Gangguan EPCs sangat berhubungan dengan insiden iskemia vaskuler (Cindy et al, 2004). *Endothelial*

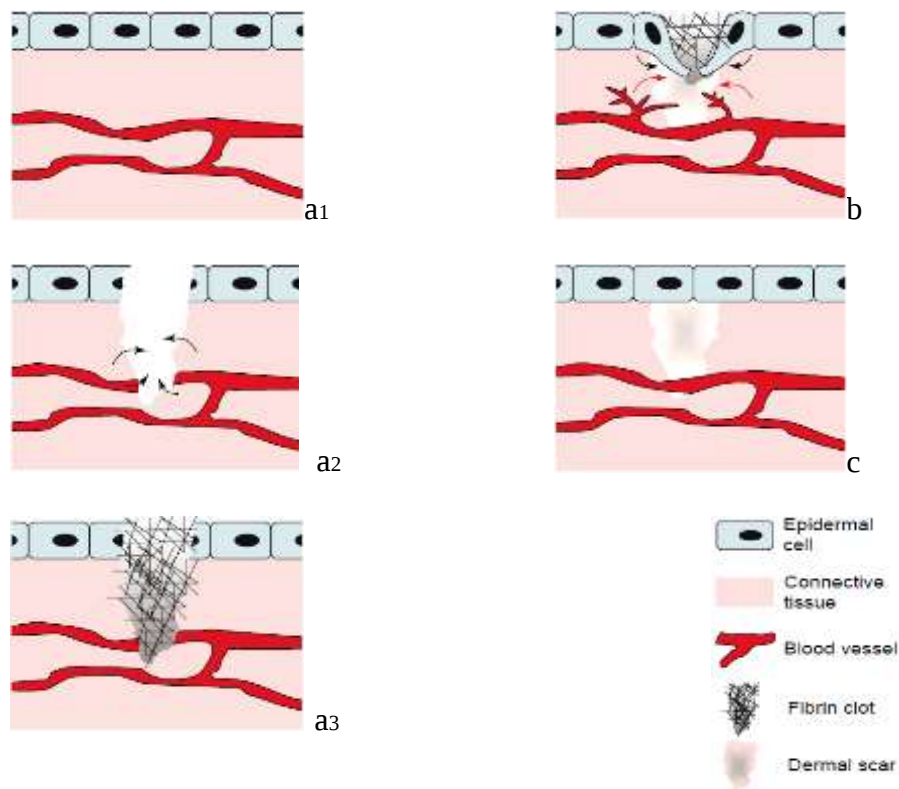
nitric oxide synthase (eNOS), diketahui penting untuk *survival*, migrasi dan angiogenesis dari EPCs atau sel endotel. *Nitric oxide* (NO) diproduksi oleh aktivitas dari eNOS yang mengawali mobilisasi EPCs dari *bone marrow* melalui nitrosilasi dan meningkatkan ekspresi dari *vascular endothelial growth factor* (VEGF) (Chen et al, 2007).

2.5 Angiogenesis

Angiogenesis adalah tanda penyembuhan luka. Molekul proangiogenik dan antiangiogenik sangat bervariasi dan telah diketahui. Beberapa *growth factor* merupakan mediator dalam angiogenesis selama proses penyembuhan luka, termasuk *transforming growth factor beta-1* (TGF β -1), *tumor necrosis factor alfa* (TNF α), *epidermal growth factor* (EGF), *keratinocyte growth factor* (KGF), *interleukins 1, 6, 8* (IL 1, 6, 8), *basic fibroblastic growth factor* (bFGF), *platelet-derived growth factor* (PDGF) dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF) (Corral et al, 1999).

Salah satu yang terpenting dari faktor proangiogenik adalah *vascular endothelial growth factor* (VEGF). VEGF adalah sesuatu yang mempunyai pengaruh pada angiogenesis dan limfangiogenesis, sebab merupakan mitogen spesifik tertinggi dalam sel endotel. Sinyal transduksi terlibat, mengikat reseptor *tyrosine kinase* dan menghasilkan proliferasi sel endotel, migrasi dan formasi pembuluh darah yang baru. VEGF juga *potentiates* hiperpermeabilitas mikrovaskuler, dimana dapat mendahului dan menyertai angiogenesis (Hoeben et al, 2004). VEGF tidak hanya terekspresi pada endotel dinding pembuluh darah baru, tetapi terekspresi juga pada pembuluh darah lama.

Angiogenesis terjadi karena respon terhadap faktor angiogenik yang menstimuli terjadinya kapiler baru sebagai akibat pertumbuhan dari *venule*. Sel endotel akan bermigrasi kemudian berproliferasi dan membentuk tabung lumen, kemudian vaskuler lain yang berdekatan akan saling berhubungan pada daerah luka (Folkman, Shing, 2008). Sedangkan endotel yang terdapat dalam peredaran darah dan sampai pada pembuluh yang mengalami kerusakan juga dapat teraktivasi dan membentuk dinding pembuluh darah baru. Proses ini disebut sebagai vaskulogenesis (gambar 2.11).



Gambar 2.11 Skematik serial yang memperlihatkan tahap perbaikan jaringan setelah terkena luka pada kulit. (a) Dalam beberapa menit lapisan barrier epidermis rusak dan jaring dibawah kulit menjadi rusak, defek terisi oleh fibrin clot yang berasal dari plasma dan *platelet* dari bocornya pembuluh darah. (b) Dalam beberapa jam sejak cedera, respon angiogenik yang masif terpicu dan tepi epidermis mulai bermigrasi ke depan satu dan yang lainnya menghubungkan antara jaringan ikat luka dan keropeng. (c) Ketika epidermis telah sembuh setelah luka terbuka, vaskuler bertunas berubah dan jaringan ikat mengalami kontraksi untuk memperbaiki defek dan akhirnya menyisakan jaringan parut pada dermis (Diambil dari Folkman, Shing, 2008).

Angiogenesis adalah proses pembentukan pembuluh darah baru melalui tunas sel endotel yang berasal dari pembuluh darah yang sudah ada atau melalui subdivisi intravaskuler (intususepsi). Pada proses angiogenesis, pleksus vaskuler embrionik primitif akan disusun menjadi pleksus permanen melalui proses *remodeling* dimana pembuluh darah yang berukuran relatif sama akan diubah menjadi suatu jaringan pembuluh darah yang kemudian akan mengalami proses maturasi dengan terbentuknya sel perivaskuler, yaitu sel otot polos dan perisit. Kapiler yang terbentuk dapat diamati secara histologik dengan pemeriksaan *Masson's trichrome*. Pada pemeriksaan ini kapiler pembuluh darah memperlihatkan warna kebiruan (Hurle et al, 2009).

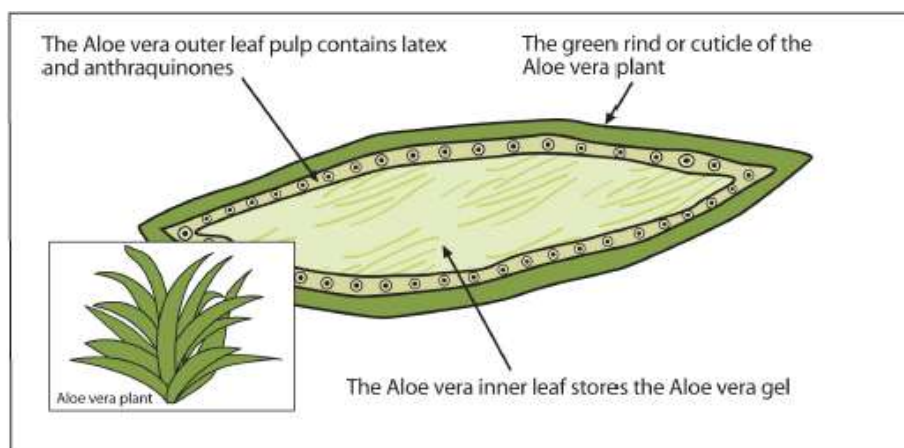
Pertumbuhan pembuluh darah baru merupakan suatu proses yang rumit yang membutuhkan interaksi terkoordinasi antara sel endotel dengan lingkungan jaringannya. Fase transien angiogenesis terjadi pada berbagai proses fisiologis tubuh manusia, seperti pada proses penyembuhan luka. Proses angiogenesis itu sendiri juga sangat mempengaruhi penyembuhan luka. Semakin baik vaskularisasi pada daerah luka, maka akan semakin baik pula proses penyembuhan luka (Simons, Rubanyi, 2007).

2.6 Aloe vera

Aloe vera adalah salah satu tanaman obat yang berkhasiat menyembuhkan berbagai penyakit. Tanaman ini sudah digunakan bangsa Samaria sekitar tahun 1875 SM. Demikian juga bangsa Mesir kuno sudah mengenal khasiat lidah buaya sebagai obat sekitar tahun 1500 SM. Berkat khasiatnya, masyarakat Mesir kuno menyebutnya sebagai tanaman keabadian (Baswarsiati, 2009).

Di dunia ada 350 jenis aloe vera, hanya 3 yang diperdagangkan secara komersil. Aloe chinensis yang banyak ditanam di Pontianak, Cape aloe (Aloe ferox) asli Afrika yang banyak digunakan sebagai obat dan Curacao aloe (Aloe vera barbadensis Miller) yang paling banyak dimanfaatkan termasuk digunakan untuk pengobatan (Baswarsiati, 2009).

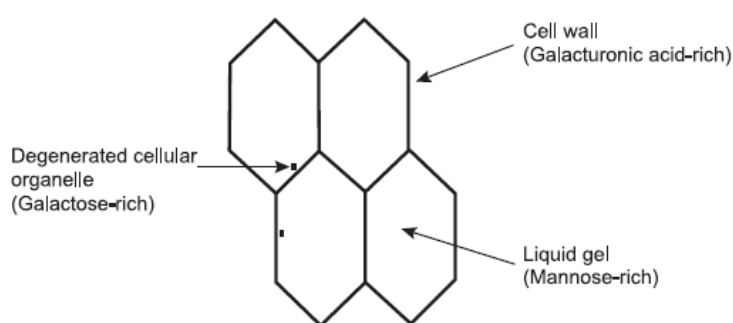
Aloe vera barbadensis Miller mengandung 72 zat yang dibutuhkan oleh tubuh. Diantara ke-72 zat tersebut, terdapat 18 macam asam amino, karbohidrat, lemak, air, vitamin, mineral, enzim, hormon dan zat golongan obat seperti antibiotik, antiseptik, antibakteri, anti kanker, anti virus, anti jamur, anti infeksi, anti inflamasi, anti pembengkakan, anti parkinson, anti arterosklerosis, serta anti obat yang resisten terhadap antibiotik (Baswarsiati, 2009).



Gambar 2.12 Potongan melintang daun Aloe vera
(Diambil dari Bassetti, Saia, 2001. *The Great Aloe Book*)

Aloe vera (Aloe barbadensis Miller) adalah tumbuhan abadi yang mempunyai daun yang gemuk dimana didapatkan cairan jus yang tebal bila dipotong melintang (Chopra, 1994). Sel parenkim yang terletak dibagian yang dalam dibawah kulit ari mengandung jeli berwarna transparan yang disebut

sebagai gel aloe vera (gambar 2.12). Kandungan yang bermacam-macam ditemukan didalam gel daun aloe (Ramachandra *et al*, 2008). Aktivitas biologis dari gel aloe vera diduga merupakan aksi sinergis antara *polysaccharide base* dan komponen lainnya. *Mannose-6-phosphate*, yang merupakan polisakarida utama pada gel aloe yang telah diketahui kegunaannya dalam penyembuhan luka dan aktivitas anti-inflamasi (gambar 2.13) (Davis *et al*, 1994).



Gambar 2.13 Representasi skematik struktur daun aloe vera dan komponennya.
(Diambil dari Ni *et al*, 2004)

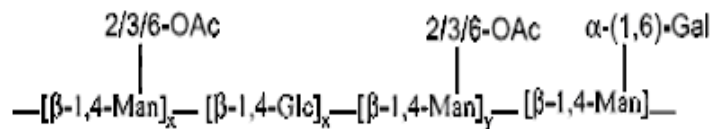
Kandungan kimia aktif potensial aloe vera berasal dari gel, dimana 99% air dengan pH 4.5 berupa polisakarida *glucomannan* dan *acemannan* (Klein, Penneys, 1988). Lainnya: *carboxypeptidase*, magnesium, zinc, kalsium, glukosa, kolesterol, asam salisilat, *prostaglandin precursors (gamma-linolenic acid [GLA])*, vitamin A, C, E, *lignins*, *saponins*, *plant sterols* dan asam amino (Atherton, 1998; Afzal, Ali, 1991). Dari garis daun *latex: anthraquinone glycosides*, yaitu aloin, aloe-emodin, barbaloin (gambar 2.14) (15% -30%) (Bradley, 1992).



Gambar 2.14 Gel Aloe vera yang telah dikupas
(Diambil dari Radmilo, 2007. Aloe)

Dua hormon yang diketahui dalam kandungan aloe vera, yaitu *auxins* dan *gibberllins*. Keduanya berperan dalam penyembuhan luka dan efek anti-inflammasi. *Lignin*, merupakan substansi *cellulose-based*, substansi yang mengandung kekuatan penetrasi dalam kemampuan penetrasi kulit dari aloe vera, sehingga mempunyai kemampuan untuk membawa kandungan aktif yang lain masuk kedalam kulit untuk memelihara dermis. *Glycoprotein* menghasilkan aktivitas *proliferation-promoting* pada sel manusia dan hamster dan meningkatkan penyembuhan luka dengan ditemukan sel proliferasi dan migrasi yang signifikan. Mukopolisakarida, salah satu yang terkandung dalam aloe, berperan sangat penting sebagai *growth factor*. *Growth factor* ini berkontribusi dalam penyembuhan luka dengan menstimulasi fibroblas (*connectivetissue cells*) untuk memproduksi kolagen lebih banyak, dimana akan meningkatkan proses *remodeling* pada luka dan mengisi daerah luka. Bekerja secara sinergis, aloe mempertahankan suasana *moist* pada luka dan pada saat yang sama membawa oksigen untuk penetrasi ke dalam luka, menambah regenerasi sel. Ekstrak aloe juga menghambat produksi prostaglandin dan tromboksan dari *arachidonic acid*, mengurangi inflamasi (Saeed *et al*, 2003). Penetrasi ke dalam jaringan, gel aloe

akan mengurangi inflamasi dan meningkatkan aliran darah dengan cara menghambat sintesa vasokonstriktor tromboksan A2 yang kuat (Gallagher *et al*, 2003).



Gambar 2.15 Struktur kimia *acemannan*.
(Diambil dari Talmadge, 2004)

Acemannan bekerja menstimulasi *immune* dan anti-inflamasi, meningkatkan aktivitas monosit dan makrofag dan sitotoksisitas, menstimulasi *killer T-cells* dan meningkatkan aktivitas makrofag candidasid secara *in vitro* (gambar 2.15). *Acemannan* meningkatkan pelepasan makrofag interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), *tumor necrotizing factor alpha* (TNF- α) dan interferon gamma (INF- γ) dalam dosis tertentu sesuai kebutuhan (Saeed *et al*, 2003). *Acemannan* mampu menstimulasi *oxygen consumption*, meningkatkan angiogenesis dan meningkatkan sintesa kolagen pada daerah luka (Laura *et al*, 2002). *Acemannan* mengakselerasi penyembuhan luka dengan cara mempengaruhi proliferasi fibroblas dan menstimulasi ekspresi KGF-1 dan VEGF. *Acemannan* mempunyai kemampuan dalam menstimulasi hematopoiesis dan efek antioksidan. *Acemannan* juga mampu mengurangi inflamasi melalui sintesa prostaglandin dan meningkatkan infiltrasi leukosit (Ramamoorthy *et al*, 1996; Hamman, 2008). *Acemannan* berperan signifikan pada proses penyembuhan luka oral via induksi proliferasi fibroblas dan menstimulasi KGF-1, VEGF dan ekspresi kolagen tipe I (Jettanacheawchankit *et al*, 2009).

Aloe vera mengandung *Glycine*, *Proline* dan *Lysine* dimana merupakan asam amino yang benar-benar meningkatkan kadar kolagen. Jika tubuh memerlukan kandungan *Glycine* dan *Proline* (asam amino esensial) dan menghasilkan *Lysine* (asam amino non-esensial) untuk memperbaiki luka dengan kolagen, maka dapat dengan cara mengkonsumsi aloe vera yang mengandung asam amino tersebut. Kandungan ini berfokus pada reproduksi seluler dan oleh sebab itu mengakselerasi waktu penyembuhan. Aloe vera juga mengandung banyak nutrisi yang berfungsi sebagai agen anti-inflamasi. Sterol pada aloe vera, *Campesterol*, β *Sitosterol* dan *Lupeol*, adalah faktor utama yang berkontribusi sebagai anti-inflamasi dari aloe vera (Davis, 1997).

Data dari penelitian *in vitro*, memperlihatkan *immune modulation*. *Fresh aloe gel* mempromosikan adanya perkembangan dan pertumbuhan pada sel normal manusia pada *monolayer cultures*; meskipun, produk yang komersial tidak memperlihatkan hasil yang sama dan memperlihatkan efek toksik pada *cell cultures* (Tyler, 1992). Gel aloe memperlihatkan peningkatan aliran darah pada sel yang cidera (Brasher *et al*, 1969). Ekstrak aloe mempertunjukkan *dose-dependent angiogenic activity* pada embrio ayam dan paru-paru hewan coba *calf* (anak sapi) (Lee, 1995; Lee, 1998).

Pada penelitian hewan coba, pengobatan aloe mempertinggi endapan kolagen dan *cross-linking* jaringan granulasi pada luka tikus (Chithra *et al*, 1998). Pada penelitian hewan coba yang lain, aloe mempercepat penyembuhan luka bakar, cidera listrik, *frostbite*, cidera kimia dan pembedahan dan memperbaiki *scar strength* dibandingkan dengan pemberian terapi topikal antibiotik (Heggers *et al*, 1993; Heggers *et al*, 1995). Aloe terbukti merupakan agen penyembuhan

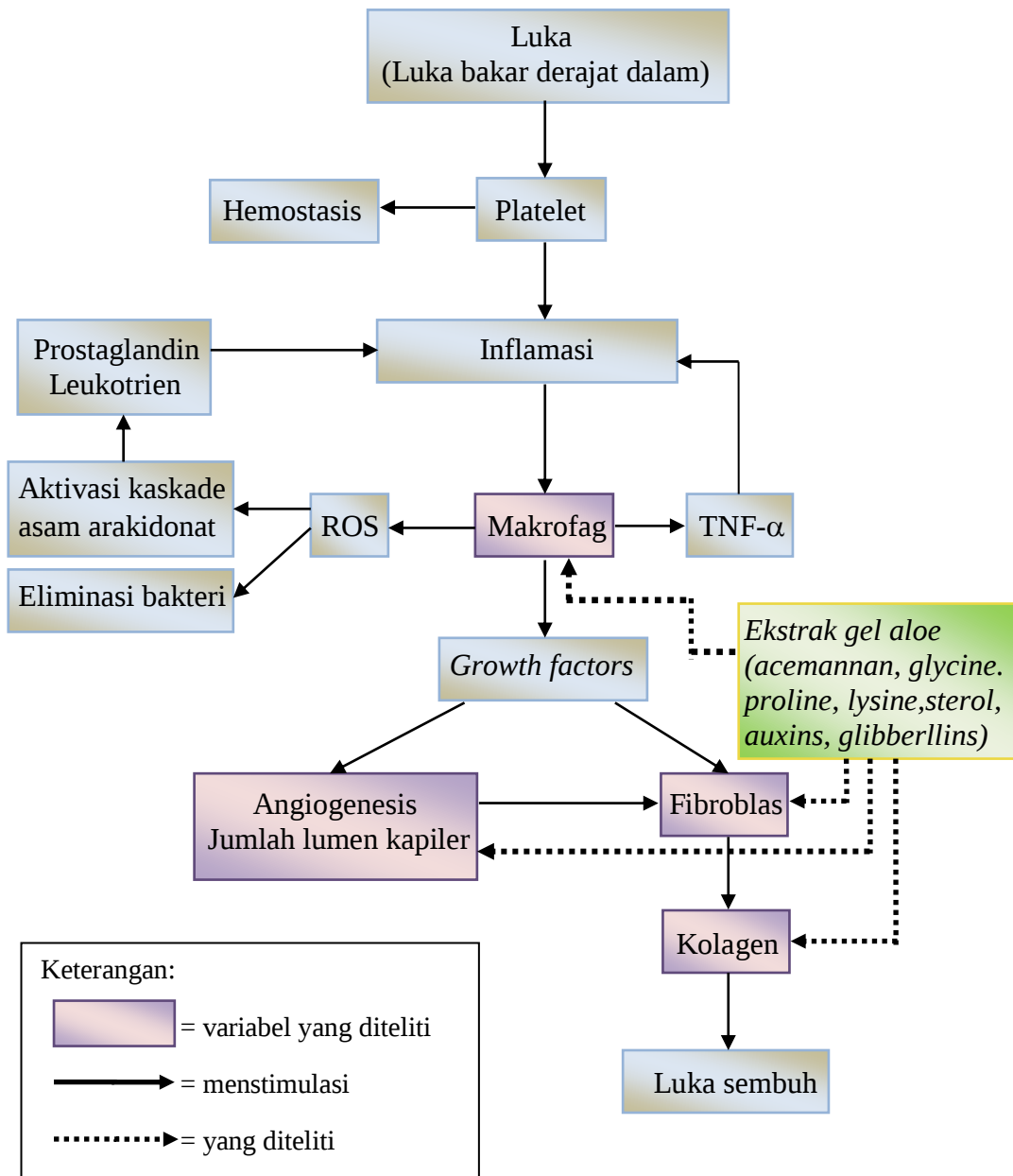
yang efektif untuk ternak sapi penghasil susu yang menderita puting susu pecah (Jimenez *et al*, 1995). Sargowo dkk tahun 2012 melakukan penelitian pada tikus, gel aloe vera berpotensi sebagai kandidat terapi herbal penyembuhan luka diabetik melalui meningkatkan EPC *homing*, mengurangi jumlah CECs dan menstimulasi peningkatan level VEGF dan eNOS dimana hal ini membuktikan keterlibatannya sebagai faktor dominan pada proses angiogenesis.

Efek negatif dari aloe vera jarang sekali terjadi. Meskipun pernah dilaporkan pada wanita 72 tahun dengan insufisiensi vena perifer yang diobati dengan jus aloe vera buatan sendiri, yang mengakibatkan timbulnya dermatitis pada tungkai dan eritema pada kelopak mata (Ferreira *et al*, 2007).

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka konseptual pemberian ekstrak gel aloe vera mempercepat penyembuhan luka bakar derajat dalam.

Rangkaian fase penyembuhan luka bakar dimulai segera setelah terjadi luka bakar. 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.

Selain melalui proses fagositosis, makrofag juga berperan dalam eliminasi bakteri dengan cara memproduksi *reactive oxygen species* (ROS). ROS penting dalam mencegah infeksi bakterial melalui sifat radikal bebasnya, namun tingginya kadar ROS secara berkepanjangan akan 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 pada luka bakar. Makrofag sendiri juga memproduksi berbagai sitokin pro inflamasi, salah satunya adalah *tumor necrotizing factor- α* (TNF- α) yang dapat memicu ulang proses inflamasi secara langsung.

Berbagai macam *growth factor* diproduksi oleh makrofag dan berfungsi untuk memicu proses angiogenesis dan pembentukan fibroblas. Angiogenesis tampak pada hari ke-4 pasca cedera. Proses angiogenesis itu sendiri juga sangat mempengaruhi pembentukan fibroblas. Semakin baik vaskularisasi pada daerah luka, semakin bertambah pula proliferasi fibroblas.

Fibroblas memegang peranan yang sangat penting pada fase proliferasi. Fibroblas akan memproduksi matriks ekstraselular yang kemudian akan digantikan oleh kolagen. Awalnya kolagen ini memiliki susunan yang tidak beraturan. Oleh karena itu diperlukan enzim *prolyl* dan *lysyl hydorxylase* untuk stabilisasi dan proses *cross-linking* kolagen, sehingga bisa tercapai *tensile strength*

dari kulit yang terluka. Luka tidak mudah terkoyak lagi dengan adanya *tensile strength* ini dan diikuti dengan terjadinya kontraksi untuk mempersempit luka oleh miofibroblas serta proses epitelialisasi, terjadilah luka yang sembuh.

Aktivitas biologis dari gel aloe vera diduga merupakan aksi sinergis antara *polysaccharide base* dan komponen lainnya. *Mannose-6-phosphate*, yang merupakan polisakarida utama pada gel aloe yang telah diketahui kegunaannya dalam penyembuhan luka dan aktivitas anti-inflamasi.

Dua hormon yang diketahui dalam kandungan aloe vera, yaitu *auxins* dan *gibberllins*. Keduanya berperan dalam penyembuhan luka dan efek anti-inflamasi. Sementara *Glycoprotein* menghasilkan aktivitas *proliferation-promoting* pada sel manusia dan hamster dan meningkatkan penyembuhan luka dengan ditemukan sel proliferasi dan migrasi yang signifikan.

Mukopolisakarida salah satu yang terkandung dalam aloe, berperan sangat penting sebagai *growth factor*. *Growth-factor* ini berkontribusi dalam penyembuhan luka dengan menstimulasi fibroblas (*connectivetissue cells*) untuk memproduksi kolagen lebih banyak, dimana akan meningkatkan proses *remodeling* pada luka dan mengisi daerah luka. Bekerja secara sinergis, aloe mempertahankan suasana *moist* pada luka dan pada saat yang sama membawa oksigen untuk penetrasi ke dalam luka, menambah regenerasi sel.

Ekstrak aloe juga menghambat produksi prostaglandin dan tromboksan dari *arachidonic acid*, mengurangi inflamasi. Penetrasi ke dalam jaringan, gel aloe akan mengurangi inflamasi dan meningkatkan aliran darah dengan cara menghambat sintesa vasokonstriktor tromboksan A2 yang kuat.

Acemannan bekerja menstimulasi *immune* dan anti-inflamasi, meningkatkan aktivitas monosit dan makrofag dan sitotoksitas, menstimulasi *killer T-cells* dan meningkatkan aktivitas makrofag candidasid secara *in vitro*. *Acemannan* meningkatkan pelepasan makrofag interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), *tumor necrotizing factor alpha* (TNF- α) dan interferon gamma (INF- γ) dalam dosis tertentu sesuai kebutuhan. *Acemannan* mampu menstimulasi *oxygen consumption*, meningkatkan angiogenesis dan meningkatkan sintesa kolagen pada daerah luka. *Acemannan* mengakselerasi penyembuhan luka dengan cara mempengaruhi proliferasi fibroblas dan menstimulasi ekspresi KGF-1 dan VEGF. *Acemannan* mempunyai kemampuan dalam menstimulasi hematopoiesis dan efek antioksidan. *Acemannan* juga mampu mengurangi inflamasi melalui sintesa prostaglandin dan meningkatkan infiltrasi leukosit. *Acemannan* berperan signifikan pada proses penyembuhan luka oral via induksi proliferasi fibroblas dan menstimulasi KGF-1, VEGF dan ekspresi kolagen tipe I.

Aloe vera mengandung *Glycine*, *Proline* dan *Lysine* dimana merupakan asam amino yang benar-benar meningkatkan kadar kolagen. Sterol pada aloe vera, *Campesterol*, β *Sitosterol* dan *Lupeol*, adalah faktor utama yang berkontribusi sebagai anti-inflamasi.

3.2 Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak gel aloe vera topikal akan:

1. Meningkatkan jumlah lumen pembuluh darah
2. Meningkatkan jumlah makrofag
3. Meningkatkan jumlah fibroblas
4. Menambah ketebalan kolagen

pada luka bakar derajat dalam pada tikus.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group*.

4.2 Variabel

4.2.1 Variabel Bebas

Ekstrak gel aloe vera yang diberikan secara topikal.

4.2.2 Variabel Tergantung

Jumlah lumen pembuluh darah, jumlah makrofag, jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen yang dinilai secara histopatologis.

4.3 Sampel

Perlakuan diberikan pada tikus jantan (*Rattus novergicus*) strain Wistar. Tikus betina tidak digunakan untuk menghindari pengaruh hormon progesteron dan estrogen terhadap proses penyembuhan luka. Tikus yang digunakan untuk penelitian adalah tikus usia 3 bulan dengan berat sekitar 250-300 gram.

Besar sampel hewan coba untuk masing-masing 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 hewan coba untuk masing-masing sampel adalah 6, dimana jumlah sampel 4 yaitu sampel tikus dengan luka perlakuan yang diperiksa pada hari ke-3, sampel tikus dengan luka kontrol yang diperiksa pada hari ke-3, sampel tikus dengan luka perlakuan yang diperiksa pada hari ke-10 dan sampel tikus dengan luka kontrol yang diperiksa pada hari ke-10 dengan total 24 subjek. Oleh karena setiap ekor tikus mengandung 2 subjek, yaitu luka perlakuan berupa luka yang dirawat dengan ekstrak gel aloe vera dan luka kontrol yang dirawat secara *moist*, maka dibutuhkan 12 ekor tikus pada penelitian ini. Seluruh hewan coba diperlakukan sesuai dengan aturan *Animal Care and Use Committee* Universitas Airlangga.

4.4 Definisi Operasional Variabel

4.4.1 Ekstrak Gel Aloe Vera

Ekstrak gel aloe vera diperoleh dengan cara proses ekstraksi-pengendapan ini merupakan cara untuk mengambil zat aktif (*acemannan*) yang terdapat dalam aloe vera. Pada proses ini digunakan 50 cc gel aloe vera sebagai bahan baku

utama, 200 cc etanol 96 % sebagai pengendap, waktu pengendapan 10 jam dan temperatur pengendapan 10 °C yang ditetapkan selama proses.

Bahan baku yang digunakan adalah gel aloe vera yang diperoleh dari tanaman aloe vera. Selain itu ada beberapa bahan lain yang digunakan yaitu etanol 96% sebagai pengendap polisakarida dan kalsium hipoklorit untuk membuat larutan pencuci aloe vera.

Setelah aloe vera dipotong dari tanamannya segera dicuci dengan menggunakan larutan kalsium hipoklorit, dikupas dan dipotong kecil untuk dimasukkan dalam juicer. Proses pencucian ini dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan kotoran dan bakteri yang terdapat pada permukaan aloe vera. Juice aloe vera yang diperoleh diambil untuk kemudian ditambahkan dengan etanol 96% dengan perbandingan 1: 4, dalam hal ini 50 cc juice aloe vera ditambahkan dengan 200 cc etanol 96%.

Campuran juice aloe vera dan etanol tersebut diaduk selama 10 menit pada suhu 30 °C, kemudian didiamkan untuk proses pengendapan selama 10 jam pada suhu 10 °C. Endapan yang terbentuk dipisahkan dari larutannya dengan menggunakan saringan penghisap untuk selanjutnya endapan tersebut dioven *vacuum* (*vacuum dryer*) pada suhu 50 °C.

4.4.2 Makrofag

Makrofag adalah sel darah putih produk diferensiasi monosit. Makrofag merupakan sel dominan pada hari kedua fase inflamasi menggantikan peran sel *polymorpho nuclear*. Protein sekretori yang dilepaskan platelet bersifat kemoatraktan terhadap monosit darah untuk menginvasi daerah luka dan

berdiferensiasi menjadi makrofag. Makrofag berdiameter 21 μm dan bersifat fagositik. Makrofag berfungsi dalam kekebalan tubuh. Selain bersifat fagositik terhadap debris dan patogen, makrofag juga berperan dalam proses penyembuhan luka. Makrofag menghasilkan zat bioaktif yang bersifat kemoatraktan terhadap makrofag lain, *growth factor* untuk proliferasi sel dan sintesis protein dan protease molekul matriks ekstraseluler (DiPietro, Burns, 2003). Zat yang dihasilkan makrofag bersifat kemoatraktan terhadap sel yang berperan pada fase proliferasi penyembuhan luka seperti fibroblas. Makrofag dirangsang oleh hipoksia jaringan untuk memacu angiogenesis. Makrofag merupakan sel utama dalam proses penyembuhan luka yang mendorong fase inflamasi memasuki fase proliferasi (Falanga, 2004). Pada pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin* di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x menggunakan pengukur *graticule*, makrofag berbentuk ireguler dan berwarna kebiruan dengan granul hasil fagositosis berwarna kecoklatan sebagai pigmen eksogen di dalam sitoplasma makrofag (Kiernan, 2008).

4.4.3 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 jumlahnya diukur dengan mikrometer *graticule* pada pembesaran 400x (Kiernan, 2008).

4.4.4 Kolagen

Kolagen adalah protein alami penyusun jaringan ikat tubuh yang merupakan 25% sampai 35% seluruh protein tubuh. Kolagen paling banyak ditemukan pada jaringan fibrous seperti tendon, ligamen dan kulit. Deposisi kolagen meningkatkan kekuatan jaringan baru luka. Berbagai sel penyembuhan luka bekerja pada matriks ekstraseluler baru yang tersusun atas kolagen. Kolagen sendiri terdiri dari berbagai tipe. Kolagen tipe III dibentuk pada hari pertama sampai ketiga pasca trauma yang akan mencapai puncaknya pada minggu pertama. Kolagen tipe III ini akan digantikan oleh kolagen tipe I yang lebih kuat saat proses penyembuhan luka memasuki fase *remodeling* yaitu sekitar minggu ketiga pasca cedera. Segera setelah proses penyembuhan luka dimulai, sintesis kolagen melebihi degradasinya dimana proses sintesis dan degradasi ini akan mencapai keseimbangan pada akhir penyembuhan luka. Jaringan baru di daerah luka pada akhirnya akan didominasi oleh kolagen (Gurtner, 2007). Pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin* menunjukkan gambaran

serabut kolagen bersifat eosinofilik dan berwarna merah muda cerah (Kiernan, 2008). Ketebalan kolagen yang berwarna kemerahan ini diukur di bawah mikroskop cahaya dengan pengukur mikrometer *graticule* pembesaran 400x.

4.4.5 Angiogenesis

Angiogenesis adalah tanda penyembuhan luka. Angiogenesis adalah proses pembentukan pembuluh darah baru melalui tunas sel endotel yang berasal dari pembuluh darah yang sudah ada atau melalui subdivisi intravaskuler (intususepsi). Pada proses angiogenesis, pleksus vaskuler embrionik primitif akan disusun menjadi pleksus permanen melalui proses remodeling dimana pembuluh darah yang berukuran relatif sama akan diubah menjadi suatu jaringan pembuluh darah yang kemudian akan mengalami proses maturasi dengan terbentuknya sel perivaskuler, yaitu sel otot polos dan perisit. Kapiler yang terbentuk dapat diamati secara histologik dengan pemeriksaan *Masson's trichrome*. Pada pemeriksaan ini kapiler pembuluh darah memperlihatkan warna kebiruan. Jumlah lumen pembuluh darah adalah jumlah lumen yang berhasil teridentifikasi yaitu berupa gambaran lumen dengan lapisan endotel pada dinding, ditandai adanya sel eritrosit di dalam lumen yang diamati (Hurle et al, 2009).

4.5 Bahan Penelitian

- Dipilih 12 ekor tikus jantan *Rattus novergicus* strain Wistar sehat yang berusia sekitar 3 bulan dengan berat sekitar 250-300 gram.

- Tikus diberikan premedikasi sulfas atropin 0.04 mg/kg berat badan, kemudian dibius dengan menggunakan ketamine 10% 20 mg/kg berat badan dikombinasi dengan xylazine 2% intramuskular.
- Masing-masing tikus dicukur bulunya pada bagian punggung, dibuat 2 desain untuk luka bakar berukuran 2 x 2 cm pada punggung kanan dan kiri.
- Desinfeksi dengan solusio *povidon iodine* 10% dan Savlon 1 : 30.
- Dibuat luka bakar derajat III dengan pelat panas (*brass bar*) ukuran 2x2cm sekitar 20 detik.
- 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 gel aloe vera.
- 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.

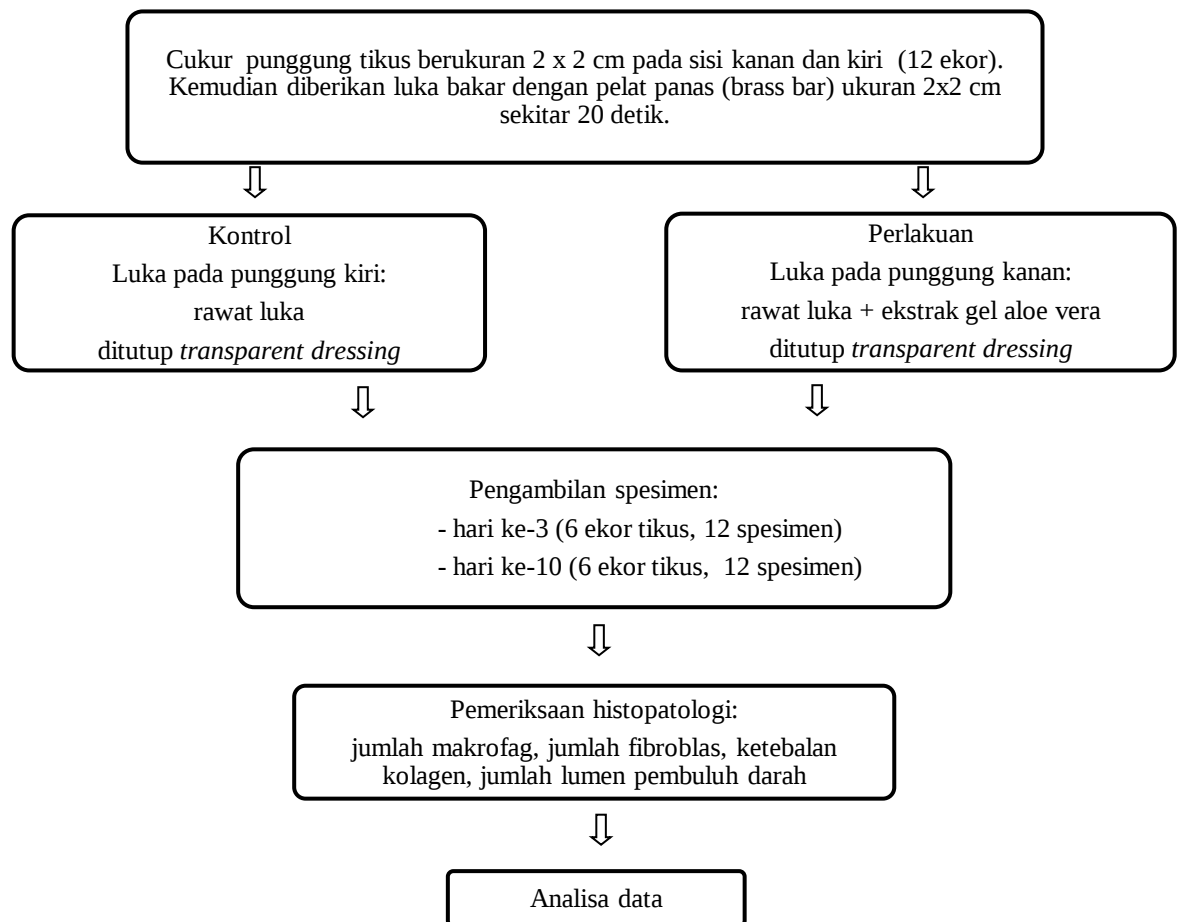
4.6 Prosedur Operasional Penelitian

- Spesimen pada punggung kiri dan kanan diambil pada waktu bersamaan.
- Spesimen diambil dari setiap luka bakar dengan cara eksisi pada bekas luka bakar di punggungnya dengan ukuran masing-masing spesimen sekitar 2x2 cm sampai sedalam otot.
- Spesimen diambil pada hari ke-3 (fase inflamasi) dan hari ke-10 (fase proliferasi), masing-masing dikorbankan 6 ekor tikus 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 jumlah makrofag, jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen dilakukan dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin*, pemeriksaan jumlah lumen pembuluh darah dilakukan dengan pewarnaan *masson's trichome*. Preparat diletakkan di bawah mikroskop cahaya kemudian jumlah makrofag, jumlah fibroblas, ketebalan kolagen dan jumlah lumen pembuluh darah diukur menggunakan pengukur mikrometer *graticule* pada pembesaran 400x.

4.7 Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium hewan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba. Pemeriksaan histopatologis spesimen dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

4.8 Kerangka Operasional Penelitian



4.9 Analisis dan Penyajian Data

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

4.10 Jadwal Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan selama bulan Desember 2012 sampai bulan Oktober

2013 dengan jadwal sebagai berikut :

Kegiatan	Bulan										
	Des 2012	Jan 2013	Feb 2013	Mar 2013	Apr 2013	Mei 2013	Jun 2013	Jul 2013	Agt 2013	Sep 2013	Okt 2013
Penelusuran kepustakaan	X	X									
Penyusunan naskah		X	X								
Presentasi proposal				X							
Pelaksanaan penelitian					X	X	X				
Pengolahan data								X	X		
Pembuatan laporan										X	
Presentasi hasil penelitian											X

4.11 Anggaran Penelitian

Tikus	Rp. 1.000.000
Perawatan tikus	Rp. 1.500.000
Jarum suntik, tabung reaksi dan pisau bedah	Rp. 1.500.000
Ekstrak gel aloe vera	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.12.500.000

BAB 5

HASIL PENELITIAN

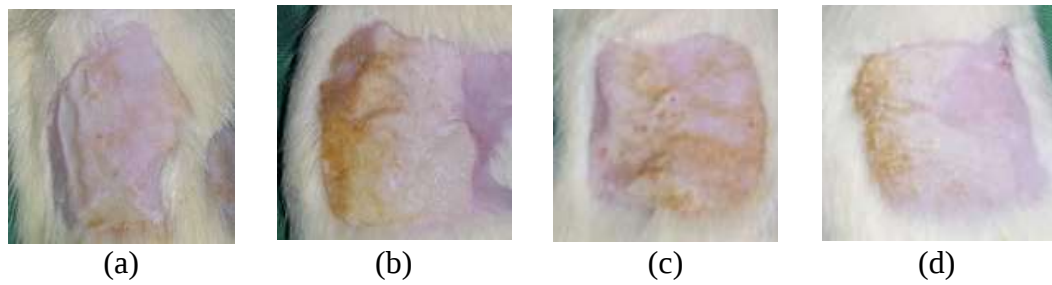
Data hasil penelitian pada seluruh periode pengamatan berupa jumlah lumen pembuluh darah, jumlah makrofag, jumlah fibroblas dan ketebalan kolagen sebelum dilakukan uji statistik, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov satu sampel. Hasil uji normalitas pada semua periode pengamatan didapatkan harga $p > 0,05$ yang artinya semua data berdistribusi normal.

Uji statistik parametrik yang digunakan adalah MANOVA (*Multivariate Analysis of Variants*) untuk membandingkan ketiga variabel penelitian pada masing-masing kelompok coba.

5.1 Gambaran Klinis Luka Bakar

Secara makroskopis, pada pengamatan hari ke-3 semua luka bakar tampak masih didapatkan *raw surface* dengan eskar tebal. Tidak tampak perbedaan yang nyata pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol namun pada kelompok perlakuan tampak eskar lebih lunak dan kulit di sekitar luka bakar tampak sedikit lebih hiperemi (gambar 5.1a dan 5.1b).

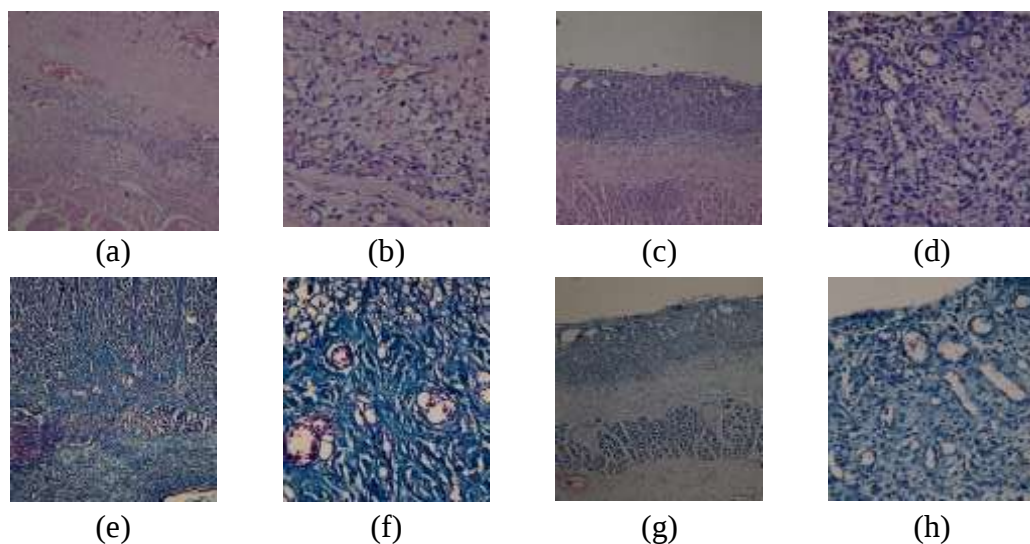
Pada pengamatan hari ke-10, pada kelompok perlakuan tampak eskar cenderung mulai menipis dimana *raw surface* cenderung sedikit mengecil, sementara pada kelompok kontrol eskar cenderung tetap tebal dan *raw surface* masih tidak berkurang (gambar 5.1c dan 5.1d).



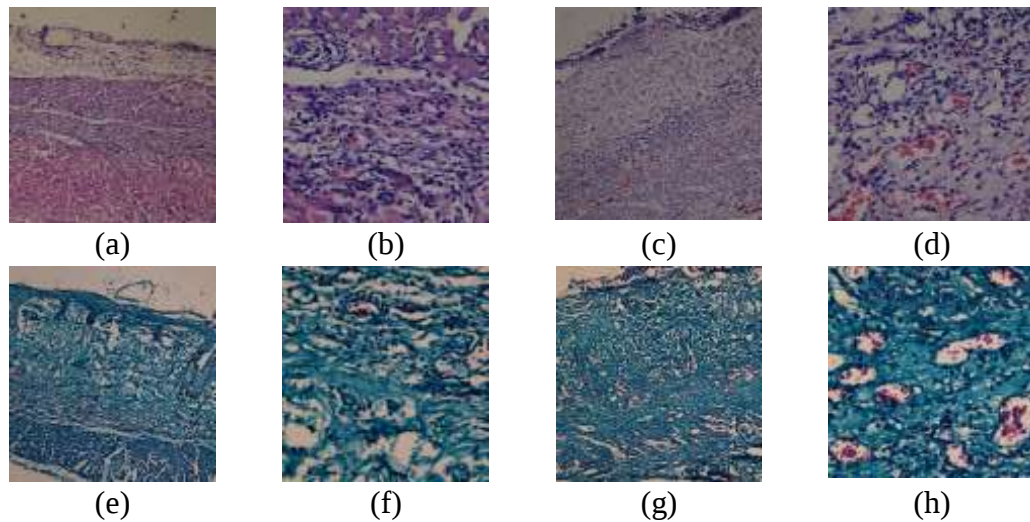
Gambar 5.1 Foto klinis luka bakar (punggung kiri: kontrol, punggung kanan: perlakuan). a) kelompok kontrol hari ke-3; b) kelompok perlakuan hari ke-3 c) kelompok kontrol hari ke-10; d) kelompok perlakuan hari ke-10

5.2 Gambaran Histologis Luka

Secara mikroskopis, spesimen luka bakar yang dibuat preparat histologis dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin* (HE) dan *masson's trichome* (MT) diperiksa dengan pembesaran 100 kali untuk menentukan daerah pemeriksaan kemudian diperiksa dengan pembesaran 400 kali untuk menilai variabel yang akan diperiksa (gambar 5.2.1 dan gambar 5.2.2).



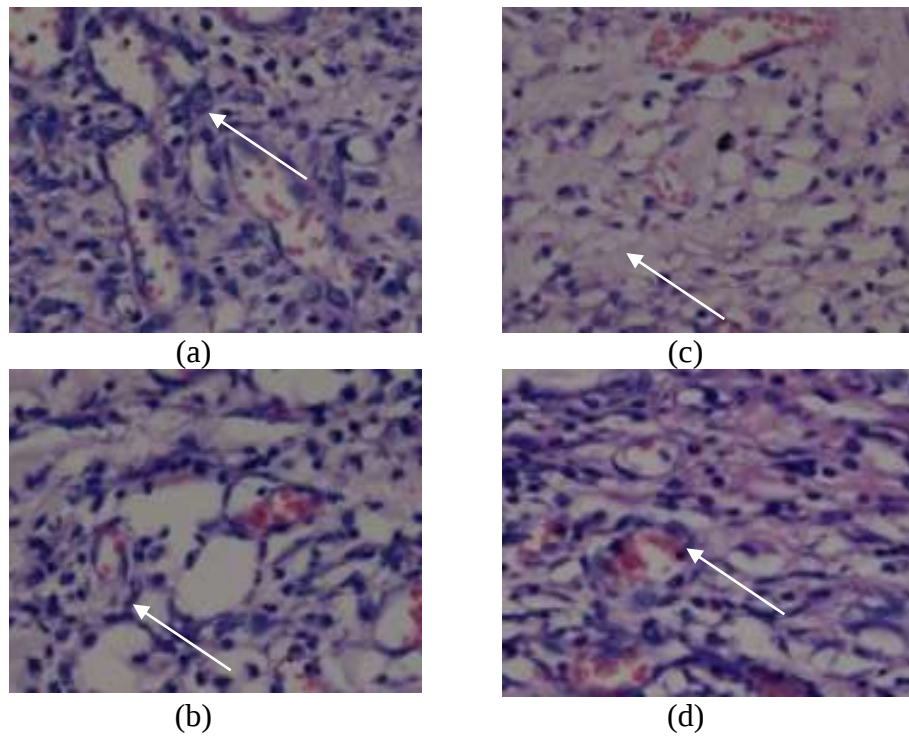
Gambar 5.2.1 Gambaran histologis pengamatan hari ke-3, luka kelompok kontrol dengan pewarnaan HE pembesaran 100 kali (a) dan pembesaran 400 kali (b), luka kelompok perlakuan dengan pewarnaan HE pembesaran 100 kali (c) dan pembesaran 400 kali (d), luka kelompok kontrol dengan pewarnaan MT pembesaran 100 kali (e) dan pembesaran 400 kali (f), luka kelompok perlakuan dengan pewarnaan MT pembesaran 100 kali (g) dan pembesaran 400 kali (h).



Gambar 5.2.2 Gambaran histologis pengamatan hari ke-10, luka kelompok kontrol dengan pewarnaan HE pembesaran 100 kali (a) dan pembesaran 400 kali (b), luka kelompok perlakuan dengan pewarnaan HE pembesaran 100 kali (c) dan pembesaran 400 kali (d), luka kelompok kontrol dengan pewarnaan MT pembesaran 100 kali (e) dan pembesaran 400 kali (f), luka kelompok perlakuan dengan pewarnaan MT pembesaran 100 kali (g) dan pembesaran 400 kali (h).

5.2.1 Jumlah Makrofag

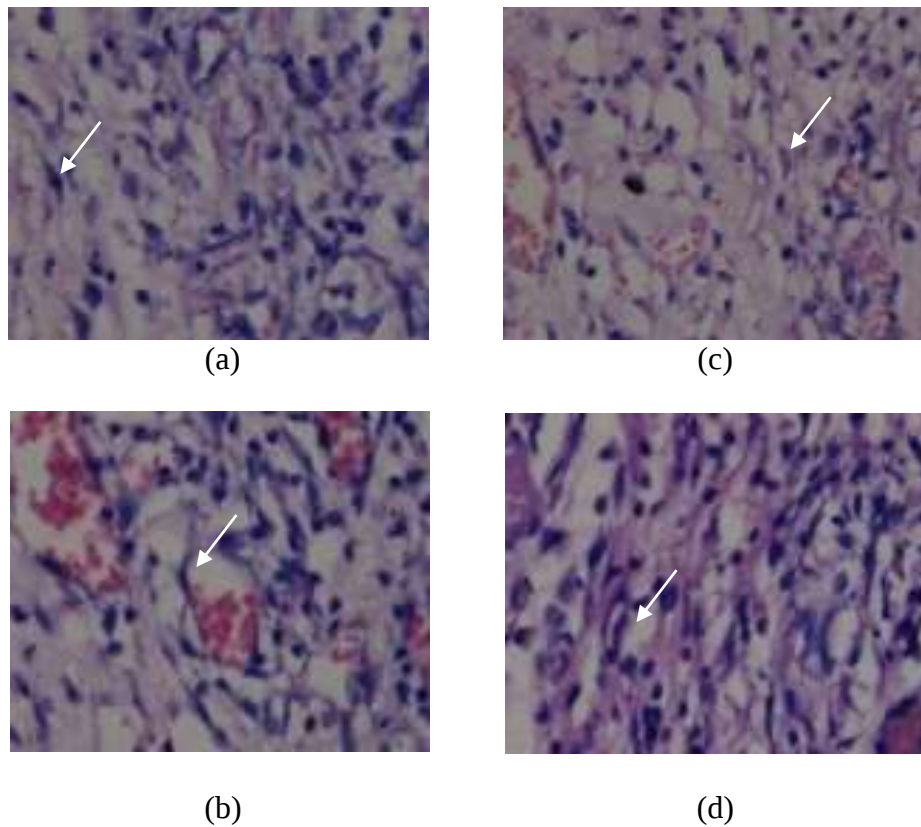
Secara histologis, jumlah makrofag pada pengamatan hari ke-3, kelompok perlakuan memiliki jumlah makrofag lebih banyak dibandingkan dengan kelompok kontrol (gambar 5.2.3 a dan gambar 5.2.3 c). Pada pengamatan hari ke-10, jumlah makrofag pada kelompok perlakuan tampak masih lebih banyak dibandingkan pada kelompok kontrol (gambar 5.2.3 b dan gambar 5.2.3 d).



Gambar 5.2.3 Gambaran histologis jumlah makrofag (HE, 400x). Perlakuan: a) Pengamatan hari ke-3; b) pengamatan hari ke-10. Kontrol: c) Pengamatan hari ke-3; d) pengamatan hari ke-10.

5.2.2 Jumlah Fibroblas

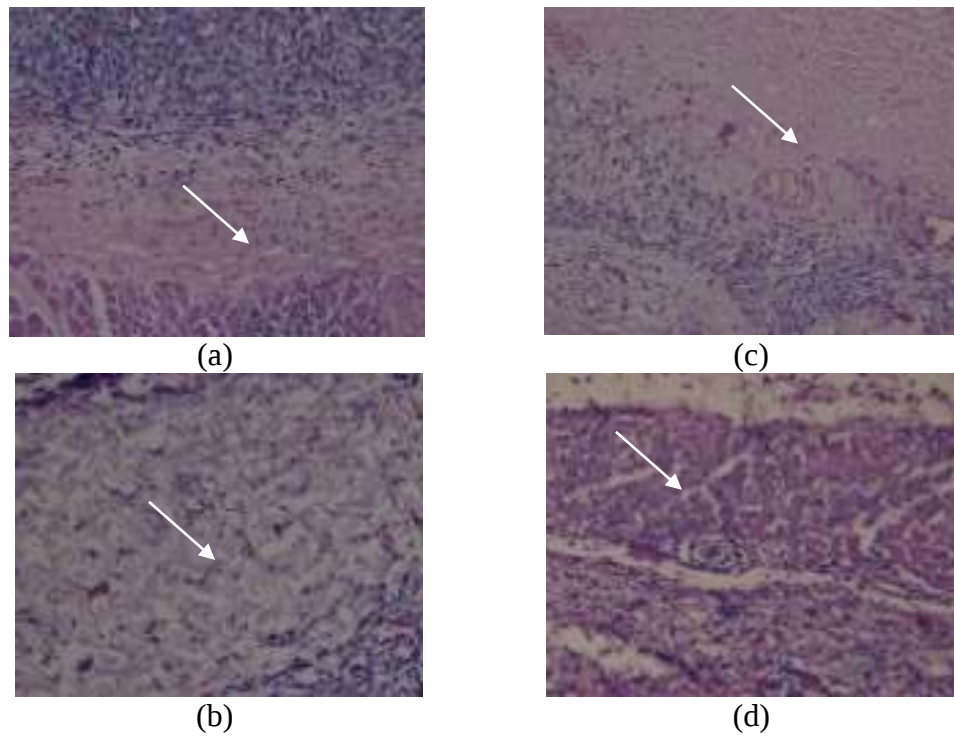
Secara histologis, jumlah fibroblas pada pengamatan hari ke-3, kelompok perlakuan memiliki jumlah fibroblas lebih banyak dibandingkan dengan kelompok kontrol (gambar 5.2.4 a dan gambar 5.2.4 c). Pada pengamatan hari ke-10, jumlah fibroblas pada kelompok perlakuan tampak masih lebih banyak dibandingkan pada kelompok kontrol (gambar 5.2.4 b dan gambar 5.2.4 d).



Gambar 5.2.4 Gambaran histologis jumlah fibroblas (HE, 400x). Perlakuan: a) Pengamatan hari ke-3; b) pengamatan hari ke-10. Kontrol: c) Pengamatan hari ke-3; d) pengamatan hari ke-10.

5.2.3 Ketebalan kolagen

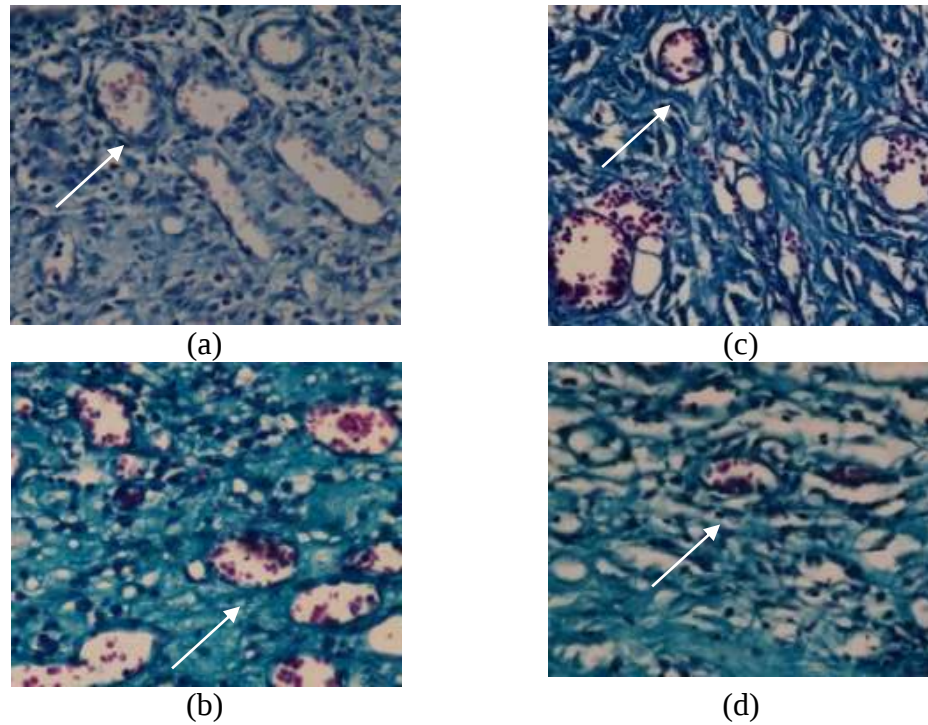
Serat kolagen pada pengamatan hari ke-3, tampak kelompok perlakuan memiliki ketebalan serat kolagen yang cenderung lebih tipis dibandingkan dengan kelompok kontrol (gambar 5.2.5 a dan gambar 5.2.5 c). Pada pengamatan hari ke-10, tampak pada kelompok perlakuan memiliki ketebalan serat kolagen cenderung lebih tebal dibandingkan kelompok kontrol (gambar 5.2.5 b dan gambar 5.2.5 d).



Gambar 5.2.5 Gambaran histologis ketebalan serat kolagen (HE, 400x).
Perlakuan: a) Pengamatan hari ke-3; b) pengamatan hari ke-10. Kontrol: c) Pengamatan hari ke-3; d) pengamatan hari ke-10.

5.2.4 Jumlah lumen pembuluh darah

Jumlah lumen pembuluh darah pada pengamatan hari ke-3, tampak kelompok perlakuan memiliki jumlah lumen pembuluh darah lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol (gambar 5.2.6 a dan gambar 5.2.6 c). Pada pengamatan hari ke-10, jumlah lumen pembuluh darah pada kelompok perlakuan relatif lebih banyak dibandingkan dengan kelompok kontrol (gambar 5.2.6 b dan gambar 5.2.6 d).



Gambar 5.2.6 Gambaran histologis jumlah lumen pembuluh darah (MT, 400x).
Perlakuan: a) Pengamatan hari ke-3; b) pengamatan hari ke-10. Kontrol: c)
Pengamatan hari ke-3; d) pengamatan hari ke-10.

5.3 Diagram Perbandingan Variabel Penelitian Antar Periode Pengamatan

5.3.1 Perbandingan jumlah makrofag antar periode pengamatan

Pada gambar diagram 5.3.1 tampak bahwa jumlah makrofag pada kelompok perlakuan baik pada pengamatan hari ke-3 maupun hari ke-10 lebih banyak dibandingkan pada kelompok kontrol. Jumlah makrofag pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol mengalami penurunan pada pengamatan hari ke-10 dibandingkan hari ke-3.

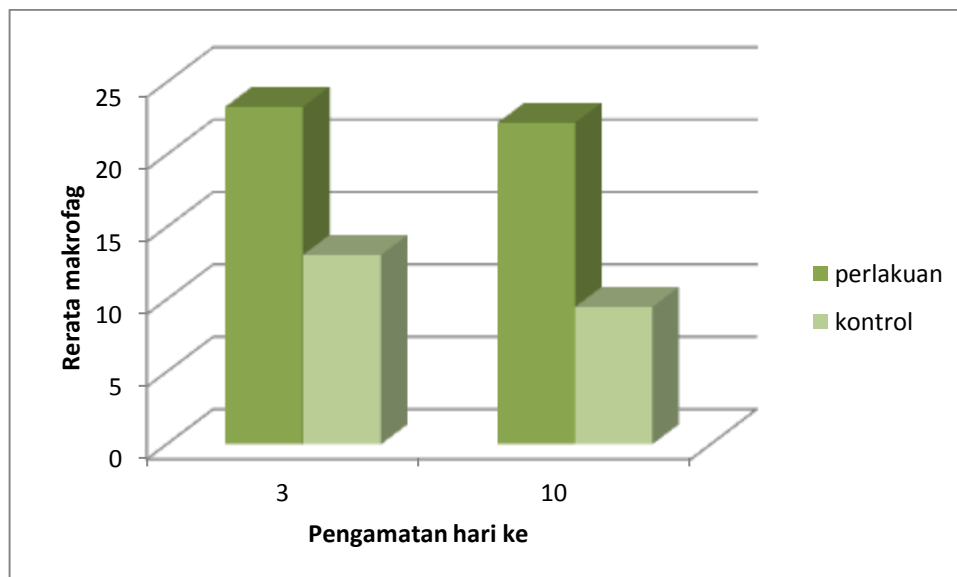


Diagram 5.1 Diagram perbandingan rerata jumlah makrofag pada kelompok perlakuan hari ke-3 dan ke-10, dengan kelompok kontrol hari ke-3 dan ke-10.

5.3.2 Perbandingan jumlah fibroblas antar periode pengamatan

Pada gambar diagram 5.3.2 tampak bahwa jumlah fibroblas pada kelompok perlakuan baik pada pengamatan hari ke-3 maupun hari ke-10 lebih banyak dibandingkan pada kelompok kontrol. Jumlah fibroblas pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol mengalami penurunan pada pengamatan hari ke-10 dibandingkan hari ke-3.

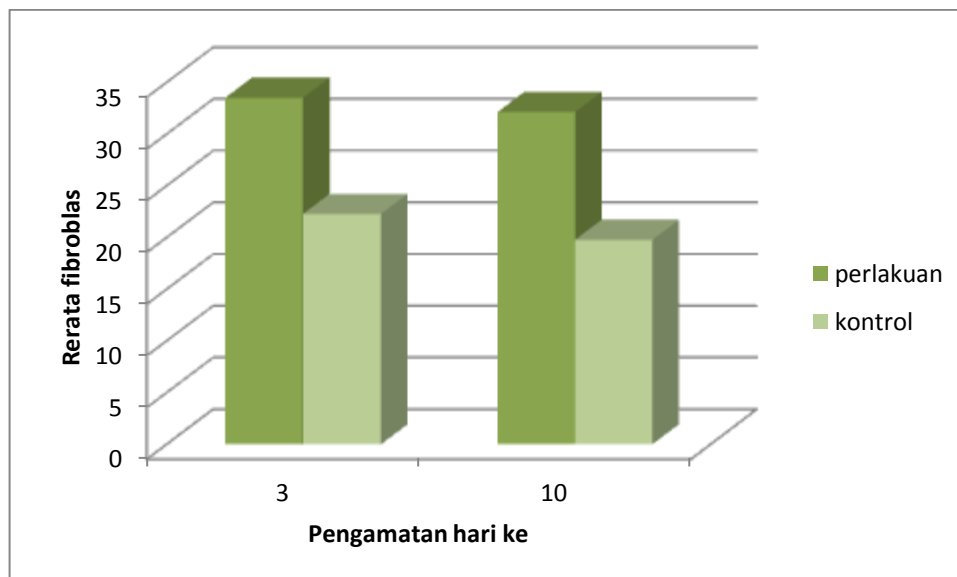


Diagram 5.2 Diagram perbandingan rerata jumlah fibroblas pada kelompok perlakuan hari ke-3 dan ke-10, dengan kelompok kontrol hari ke-3 dan ke-10.

5.3.3 Perbandingan ketebalan kolagen antar periode pengamatan

Pada gambar diagram 5.3.3 tampak bahwa ketebalan serat kolagen pada kelompok perlakuan lebih tipis dibandingkan pada kelompok kontrol pada pengamatan hari ke-3. Pada pengamatan hari ke-10 didapatkan ketebalan serat kolagen pada kelompok perlakuan lebih tebal dibandingkan pada kelompok kontrol. Pada kelompok perlakuan didapatkan serat kolagen pada pengamatan hari ke-10 lebih tebal dibandingkan pada pengamatan hari ke-3. Pada kelompok kontrol didapatkan serat kolagen pada pengamatan hari ke-10 lebih tipis dibandingkan pada pengamatan hari ke-3.

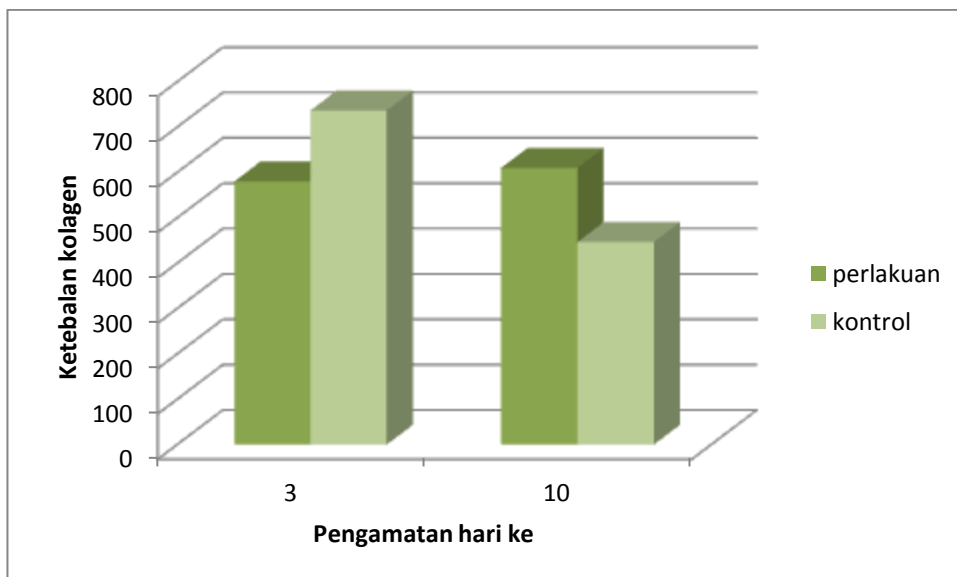


Diagram 5.3 Diagram perbandingan rerata ketebalan kolagen pada kelompok perlakuan hari ke-3 dan ke-10, dengan kelompok kontrol hari ke-3 dan ke-10.

5.3.4 Perbandingan jumlah lumen pembuluh darah antar periode pengamatan

Pada gambar diagram 5.3.4 tampak bahwa jumlah lumen pembuluh darah pada kelompok perlakuan pada pengamatan hari ke-3 lebih banyak dibandingkan pada kelompok kontrol, sementara pada pengamatan hari ke-10 jumlah lumen pembuluh darah pada kelompok perlakuan sedikit lebih banyak dibandingkan pada kelompok kontrol. Jumlah lumen pembuluh darah pada kelompok perlakuan mengalami penurunan pada pengamatan hari ke-10 dibandingkan hari ke-3, sementara jumlah lumen pembuluh darah pada kelompok kontrol mengalami kenaikan pada pengamatan hari ke-10 dibandingkan hari ke-3.

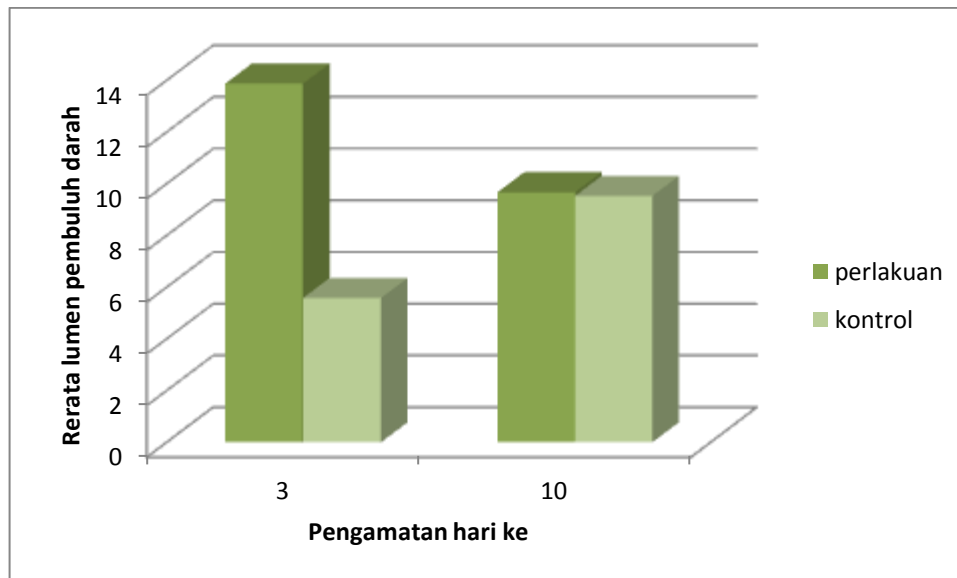


Diagram 5.4 Diagram perbandingan rerata jumlah lumen pembuluh darah pada kelompok perlakuan hari ke-3 dan ke-10, dengan kelompok kontrol hari ke-3 dan ke-10.

5.4 Analisis Hasil Penelitian

5.4.1 Analisis hasil pengamatan hari ke-3

Pada tabel 5.1 dapat dilihat bahwa pada pengamatan hari ke-3 (fase inflamasi), rerata jumlah makrofag pada kelompok perlakuan lebih banyak dibandingkan pada kelompok kontrol, tetapi perbedaannya tidak signifikan ($p=0,071$). Rerata jumlah fibroblas pada kelompok perlakuan lebih banyak dibandingkan pada kelompok kontrol, tetapi perbedaannya tidak signifikan ($p=0,094$). Rerata ketebalan kolagen lebih tebal pada kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok perlakuan, dengan perbedaan yang tidak signifikan ($p=0,179$). Rerata jumlah lumen pembuluh darah pada kelompok perlakuan lebih banyak dibandingkan pada kelompok kontrol dengan perbedaan yang signifikan ($p=0,006$).

Tabel 5.1 Rerata jumlah makrofag, jumlah fibroblas, ketebalan kolagen dan jumlah lumen pembuluh darah pada pengamatan hari ke-3

Variabel	Kelompok		Harga p
	Perlakuan	Kontrol	
Jumlah makrofag (per lapangan pandang)	23,3±3,37 ^a	13,08±8,55 ^a	0,071
Jumlah fibroblas (per lapangan pandang)	33,5±10,47 ^a	22,28±7,89 ^a	0,094
Ketebalan kolagen (mikrometer)	580±185 ^a	736,7±88 ^a	0,179
Jumlah lumen pembuluh darah (/ lapangan pandang)	13,87±4,46 ^a	5,58±2,76 ^b	0,006

Catatan: berbeda huruf *superscript* menunjukkan perbedaan bermakna (harga $p < 0,05$) hasil uji komparasi ganda LSD.

5.4.2 Analisis hasil pengamatan hari ke-10

Pada tabel 5.2 dapat dilihat bahwa pada pengamatan hari ke-10 (fase proliferasi), rerata jumlah makrofag pada kelompok perlakuan lebih banyak dibandingkan pada kelompok kontrol, tetapi perbedaannya tidak signifikan ($p=0,074$). Rerata jumlah fibroblas pada kelompok perlakuan lebih banyak dibandingkan pada kelompok kontrol, tetapi perbedaannya tidak signifikan ($p=0,163$). Rerata ketebalan kolagen lebih tebal pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol, dengan perbedaan yang tidak signifikan ($p=0,186$). Rerata jumlah lumen pembuluh darah pada kelompok perlakuan lebih banyak dibandingkan pada kelompok kontrol, namun perbedaannya tidak signifikan ($p=0,974$).

Tabel 5.2 Rerata jumlah makrofag, jumlah fibroblas, ketebalan kolagen dan jumlah lumen pembuluh darah pada pengamatan hari ke-10

Variabel	Kelompok		Harga p
	Perlakuan	Kontrol	
Jumlah makrofag (per lapangan pandang)	22,2±8,24 ^a	9,48±7,4 ^a	0,074
Jumlah fibroblas (per lapangan pandang)	32,13±6,63 ^a	19,77±14,67 ^a	0,163
Ketebalan kolagen (mikrometer)	610±185,8 ^a	446,7±85,5 ^a	0,186
Jumlah lumen pembuluh darah (/ lapangan pandang)	9,67±2,43 ^a	9,53±8,65 ^a	0,974

Catatan: berbeda huruf *superscript* menunjukkan perbedaan bermakna (harga p< 0,05) hasil uji komparasi ganda LSD.

5.4.3 Analisis hasil pengamatan kelompok perlakuan

Pada tabel 5.3 dapat dilihat bahwa pada kelompok perlakuan rerata jumlah makrofag cenderung menurun dengan perbedaan tidak signifikan pada pengamatan hari ke-3 dengan hari ke-10 (p=0,768). Rerata jumlah fibroblas cenderung menurun dengan perbedaan tidak signifikan pada pengamatan hari ke-3 dengan hari ke-10 (p=0,793). Rerata ketebalan kolagen cenderung meningkat dengan perbedaan tidak signifikan pada pengamatan hari ke-3 dengan hari ke-10 (p=0,785). Rerata jumlah lumen pembuluh darah cenderung menurun dengan perbedaan tidak signifikan pada pengamatan hari ke-3 dengan hari ke-10 (p=0,070).

Tabel 5.3 Rerata jumlah makrofag, jumlah fibroblas, ketebalan kolagen dan jumlah lumen pembuluh darah pada kelompok perlakuan

Variabel	Pengamatan		Harga p
	Hari ke-3	Hari ke-10	
Jumlah makrofag (per lapangan pandang)	23,3±3,37 ^a	22,2±8,24 ^a	0,768
Jumlah fibroblas (per lapangan pandang)	33,5±10,47 ^a	32,13±6,63 ^a	0,793
Ketebalan kolagen (mikrometer)	580±185 ^a	610±185,8 ^a	0,785
Jumlah lumen pembuluh darah (/ lapangan pandang)	13,87±4,46 ^a	9,67±2,43 ^a	0,070

Catatan: berbeda huruf *superscript* menunjukkan perbedaan bermakna (harga $p < 0,05$) hasil uji komparasi ganda LSD.

5.4.4 Analisis hasil pengamatan kelompok kontrol

Pada tabel 5.4 dapat dilihat bahwa pada kelompok kontrol rerata jumlah makrofag cenderung menurun dengan perbedaan tidak signifikan pada pengamatan hari ke-3 dengan hari ke-10 ($p=0,454$). Rerata jumlah fibroblas cenderung menurun dengan perbedaan tidak signifikan pada pengamatan hari ke-3 dengan hari ke-10 ($p=0,719$). Rerata ketebalan kolagen menurun dengan perbedaan signifikan pada pengamatan hari ke-3 dengan hari ke-10 ($p<0,0001$). Rerata jumlah lumen pembuluh darah cenderung meningkat dengan perbedaan tidak signifikan pada pengamatan hari ke-3 dengan hari ke-10 ($p=0,312$).

Tabel 5.4 Rerata jumlah makrofag, jumlah fibroblas, ketebalan kolagen dan jumlah lumen pembuluh darah pada kelompok kontrol

Variabel	Pengamatan		Harga p
	Hari ke-3	Hari ke-10	
Jumlah makrofag (per lapangan pandang)	13,08±8,55 ^a	9,48±7,4 ^a	0,454
Jumlah fibroblas (per lapangan pandang)	22,28±7,89 ^a	19,77±14,67 ^a	0,719
Ketebalan kolagen (mikrometer)	736,7±88 ^a	446,7±85,5 ^b	<0,0001
Jumlah lumen pembuluh darah (/ lapangan pandang)	5,58±2,76 ^a	9,53±8,65 ^a	0,312

Catatan: berbeda huruf *superscript* menunjukkan perbedaan bermakna (harga $p < 0,05$) hasil uji komparasi ganda LSD.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penyembuhan pada luka bakar mengalami proses seperti halnya proses penyembuhan luka pada umumnya. Fase inflamasi adalah keadaan dimana terjadi reaksi hemostasis segera setelah terjadinya luka. Komponen hemostasis ini akan melepaskan dan mengaktifkan sitokin yang meliputi *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Insulin-like Growth Factor* (IGF), *Platelet-derived Growth Factor* (PDGF) dan *Transforming Growth Factor beta* (TGF- β) yang berperan untuk terjadinya *neutrophil chemotaxis*, makrofag, *mast cell*, sel endotel dan fibroblas (Perdanakusuma, 2006).

Pada luka bakar terjadi pemanjangan fase inflamasi yang akan meningkatkan aktivitas sitokin fibrogenik seperti TGF- β dan IGF-1. Hal ini menyebabkan pada fase fibroplasi penyembuhan luka dimana secara normal terjadi aktivitas fibroblas untuk mensintesa kolagen akan lebih meningkat aktivitasnya (Perdanakusuma, 2006).

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian topikal ekstrak gel aloe vera terhadap penyembuhan luka bakar derajat dalam pada tikus berupa peningkatan jumlah lumen pembuluh darah, peningkatan jumlah makrofag, peningkatan jumlah fibroblas dan penambahan ketebalan kolagen. Peran aloe vera terhadap proses penyembuhan luka, adalah pada fase inflamasi. Dari hasil pemeriksaan histologis dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin* (HE) dan *masson's trichome* (MT) pada pengamatan hari ke-3 (fase inflamasi) didapatkan kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol menunjukkan dimulainya proses

penyembuhan luka dan angiogenesis yang ditandai dengan adanya peningkatan jumlah makrofag, jumlah fibroblas, penambahan ketebalan kolagen dan peningkatan jumlah lumen pembuluh darah. Menurut teori, fase inflamasi dimulai segera setelah cedera sampai hari ke-5 pasca cedera. Tujuan utama fase ini adalah hemostasis, hilangnya jaringan yang mati dan pencegahan kolonisasi maupun infeksi oleh agen mikrobial patogen (Gurtner, 2007). Selama fase ini sel inflamasi yang baru tiba akan meningkatkan kebutuhan metabolik. Karena mikrovaskuler lokal telah rusak, energi lokal akan dihabiskan dan PaO_2 akan menurun dan terjadi akumulasi CO_2 dan laktat. Kondisi ini terjadi selama penyembuhan luka dan bersama dengan stimulan lain seperti fibrin, benda asing, bakteri dan lainnya akan mengakibatkan lekositosis, khususnya makrofag, yang akan melepaskan sitokin, *chemoattractants* dan *growth factors* termasuk *Vascular Endothel Growth Factor* (VEGF).

Pada pengamatan hari ke-3 tampak peningkatan jumlah makrofag baik pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol, kemudian mengalami penurunan pada pengamatan hari ke-10 baik pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol. Menurut teori dalam waktu dua sampai tiga hari, populasi sel radang didominasi oleh monosit. Monosit dalam sirkulasi akan tertarik dan infiltrasi ke tempat luka. Monosit ini akan berdiferensiasi menjadi makrofag dan bergabung dengan makrofag setempat, dan memulai proses penyembuhan luka. Makrofag akan mencapai puncaknya dalam waktu tiga sampai lima hari. Makrofag adalah sel darah putih produk diferensiasi monosit. Makrofag merupakan sel dominan pada hari kedua fase inflamasi menggantikan peran sel *polymorpho nuclear* (DiPietro, Burns, 2003). Makrofag dirangsang oleh hipoksia

jaringan untuk memacu angiogenesis. Makrofag merupakan sel utama dalam proses penyembuhan luka yang mendorong fase inflamasi memasuki fase proliferasi (Falanga, 2004).

Pada pengamatan hari ke-3 juga didapatkan peningkatan jumlah makrofag pada kelompok perlakuan lebih banyak dibandingkan pada kelompok kontrol meskipun tidak signifikan, demikian juga pada pengamatan hari ke-10 dimana kelompok perlakuan lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini sesuai dengan teori bahwa *acemannan* sebagai mukopolisakarida didalam gel aloe vera bekerja meningkatkan aktivitas monosit dan makrofag dan sitotoksitas, menstimulasi *killer T-cells* dan meningkatkan aktivitas makrofag candidasid secara *in vitro*. *Acemannan* meningkatkan pelepasan makrofag interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), *tumor necrotizing factor alpha* (TNF- α) dan interferon gamma (INF- γ) dalam dosis tertentu sesuai kebutuhan (Saeed *et al*, 2003), sehingga pada pengamatan, jumlah makrofag pada kelompok perlakuan lebih banyak dibanding kelompok kontrol baik pada hari ke-3 maupun hari ke-10.

Pada pengamatan hari ke-3 tampak peningkatan jumlah fibroblas baik pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol, kemudian mengalami penurunan pada pengamatan hari ke-10 baik pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol. Hal ini sesuai dengan teori bahwa 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 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 pengamatan hari ke-3 juga didapatkan peningkatan jumlah fibroblas pada kelompok perlakuan lebih banyak dibandingkan pada kelompok kontrol meskipun tidak signifikan, demikian juga pada pengamatan hari ke-10 dimana kelompok perlakuan lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini sesuai dengan teori bahwa mukopolisakarida, salah satu yang terkandung dalam aloe vera, berperan sangat penting sebagai *growth factor*. *Growth factor* ini berkontribusi dalam penyembuhan luka dengan menstimulasi fibroblas (*connectivetissue cells*) untuk memproduksi kolagen lebih banyak, dimana akan mengisi daerah luka (Saeed *et al*, 2003), sehingga pada pengamatan, jumlah fibroblas pada kelompok perlakuan lebih banyak dibanding kelompok kontrol baik pada hari ke-3 maupun hari ke-10.

Pada pengamatan hari ke-3 tampak ketebalan kolagen pada kelompok perlakuan lebih rendah dibandingkan pada kelompok kontrol. Menurut teori bahwa fibroblas akan memproduksi matriks ekstraselular yang kemudian akan digantikan oleh kolagen. Awalnya kolagen ini memiliki susunan yang tidak beraturan yang disebut kolagen tipe III. Kolagen tipe III dibentuk pada hari pertama sampai ketiga pasca trauma yang akan mencapai puncaknya pada minggu pertama. Kolagen tipe III ini akan digantikan oleh kolagen tipe I yang lebih kuat saat proses penyembuhan luka memasuki fase *remodeling* yaitu sekitar minggu ketiga pasca cedera (Gurtner, 2007), sehingga pola penambahan ketebalan kolagen baik pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol seharusnya mengalami peningkatan pada hari ke-10 dibandingkan hari ke-3. Tetapi hasil pengamatan

pada kelompok kontrol tidak sesuai dengan prediksi teori, sementara pada kelompok perlakuan sesuai dengan prediksi teori. Sementara hasil ketebalan kolagen pada kelompok perlakuan yang lebih rendah dibandingkan pada kelompok kontrol tidak sesuai prediksi teori, dimana pola hasil dari jumlah makrofag dan jumlah fibroblas yang lebih tinggi pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol tidak tampak pada pola ketebalan kolagen. Selain itu aloe vera mengandung *Glycine*, *Proline* dan *Lysine* dimana merupakan asam amino yang benar-benar meningkatkan kadar kolagen. (Davis, 1997), meskipun tampak penambahan ketebalan kolagen pada hari ke-10 dibandingkan hari ke-3.

Pengamatan hari ke-10 sesuai dengan fase proliferasi atau fibroplasi. Fase proliferasi berlangsung mulai hari ke-4 hingga hari ke-21 pasca cedera. Hal yang menarik dari fase proliferasi ini adalah bahwa pada suatu titik tertentu, fibroblas akan segera menghilang segera setelah matriks kolagen mengisi kavitas luka dan pembentukan neovaskular akan menurun melalui proses apoptosis (Gurtner, 2007). Pada fase proliferasi dominasi peningkatan kolagen tipe III tergambar pada pewarnaan *hematoxylin-eosin* (HE), dimana pada hasil pengamatan terjadi penambahan ketebalan kolagen pada hari ke-10 dibandingkan dengan hari ke-3 meskipun perbedaannya tidak signifikan pada kelompok perlakuan.

Pada penelitian ini, terdapat hal yang menarik yaitu pada pengamatan hari ke-3 terdapat perbedaan jumlah pembuluh darah antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol yang signifikan, sedangkan pada hari ke-10 tidak terdapat perbedaan yang signifikan jumlah lumen pembuluh darah antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Menurut teori berbagai macam *growth factor* diproduksi oleh makrofag dan berfungsi untuk memicu proses angiogenesis dan

pembentukan fibroblas. Angiogenesis tampak pada hari ke-4 pasca cedera. Proses angiogenesis itu sendiri juga sangat mempengaruhi pembentukan fibroblas. Semakin baik vaskularisasi pada daerah luka, semakin bertambah pula proliferasi fibroblas. Fibroblas akan bermigrasi ke luka dan mulai berproliferasi menghasilkan matriks ekstraseluler. Sel endotel pembuluh darah di daerah sekitar luka akan berproliferasi membentuk kapiler baru untuk mencapai daerah luka. Ini akan menandai dimulainya proses angiogenesis (Anderson, 2000). Angiogenesis terjadi karena respon terhadap faktor angiogenik yang menstimuli terjadinya kapiler baru sebagai akibat pertumbuhan dari *venule*. Sel endotel akan bermigrasi kemudian berproliferasi dan membentuk tabung lumen, kemudian vaskuler lain yang berdekatan akan saling berhubungan pada daerah luka. Sedangkan endotel yang terdapat dalam peredaran darah dan sampai pada pembuluh yang mengalami kerusakan juga dapat teraktivasi dan membentuk dinding pembuluh darah baru (Folkman, Shing, 2008). Dalam hal ini dapat digambarkan bahwa proses angiogenesis yang secara teori dimulai hari ke-4 pasca cedera, dengan pemberian gel aloe vera tampak pada pengamatan hari ke-3 mengalami peningkatan yang signifikan pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol. Menurut teori gel aloe vera menstimulasi peningkatan level VEGF dan eNOS dimana hal ini membuktikan keterlibatannya sebagai faktor dominan pada proses angiogenesis (Sargowo dkk, 2012). Kandungan aktif aloe vera pada fase inflamasi menyebabkan interaksi dengan makrofag untuk memproduksi *growth factors* secara masif. Sejumlah enzim dan sitokin disekresikan oleh makrofag meliputi kolagenase yang membersihkan luka, interleukin dan *tumor necrotizing factor*

(TNF) yang memicu fibroblas untuk memproduksi kolagen dan mempromosikan angiogenesis (Laura et al, 2002).

Pada kelompok perlakuan terjadi penurunan jumlah lumen pembuluh darah pada hari ke-10 dibandingkan hari ke-3 meskipun tidak signifikan, sementara pada kelompok kontrol terjadi peningkatan jumlah lumen pembuluh darah pada hari ke-10 dibandingkan hari ke-3 meskipun tidak signifikan. Hal ini dimungkinkan karena pada fase proliferasi fibroblas akan segera menghilang segera setelah matriks kolagen mengisi kavitas luka dan pembentukan neovaskular akan menurun melalui proses apoptosis. Pada pemberian aloe vera, setelah minggu ke-2 hingga ke-4, terjadi peningkatan proses apoptosis dan penurunan proliferasi pada luka (Hegggers, 1993; Sargowo dkk, 2012), sehingga pada pengamatan hari ke-10 tampak penurunan jumlah lumen pembuluh darah pada kelompok perlakuan dibandingkan hari ke-3 meskipun jumlah lumen pembuluh darah pada kelompok perlakuan masih sedikit lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol, sementara terjadi pola peningkatan jumlah lumen pembuluh darah pada kelompok kontrol pada hari ke-10 dibandingkan hari ke-3. Hal ini menggambarkan bahwa pemberian gel aloe vera mempunyai efek positif terhadap proses angiogenesis baik pada fase inflamasi maupun proliferasi.

Efek antiinflamasi dari aloe vera secara teori juga dapat mengurangi proses inflamasi pada luka bakar terus berjalan, sehingga tampak pada pengamatan hari ke-10 menurunnya jumlah lumen pembuluh darah, jumlah makrofag dan jumlah fibroblas. *Acemannan* sebagai zat aktif dalam gel aloe vera mampu mengurangi inflamasi melalui sintesa prostaglandin dan meningkatkan infiltrasi leukosit (Ramamoorthy *et al*, 1996; Hamman, 2008). Dua hormon yang

diketahui dalam kandungan aloe vera, yaitu *auxins* dan *gibberllins*. Keduanya berperan dalam penyembuhan luka dan efek anti-inflammasi. Ekstrak aloe juga menghambat produksi prostaglandin dan tromboksan dari *arachidonic acid*, mengurangi inflamasi (Saeed *et al*, 2003).

Berdasarkan analisis statistik maupun gambaran histologis menunjukkan bahwa pemberian aloe vera secara topikal pada luka bakar derajat dalam tikus, mampu meningkatkan jumlah lumen pembuluh darah, jumlah makrofag dan jumlah fibroblas pada fase inflamasi, menambah ketebalan kolagen pada fase proliferasi dan mengurangi reaksi inflamasi.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Peran ekstrak gel aloe vera secara topikal pada proses penyembuhan luka bakar derajat dalam meningkatkan jumlah lumen pembuluh darah, meningkatkan jumlah makrofag dan meningkatkan jumlah fibroblas pada fase inflamasi.
2. Peran ekstrak gel aloe vera secara topikal pada proses penyembuhan luka bakar derajat dalam menambah ketebalan kolagen pada fase proliferasi.
3. Peran ekstrak gel aloe vera secara topikal pada proses penyembuhan luka bakar derajat dalam mengurangi reaksi inflamasi sehingga proses inflamasi tidak terus berjalan.

7.2 Saran

1. Dilakukan penelitian lebih lanjut tentang mekanisme kerja aloe vera secara lebih mendalam.
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pemberian aloe vera secara peroral pada proses penyembuhan luka bakar derajat dalam.
3. Dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pemberian aloe vera secara topikal pada penyembuhan luka bakar derajat dalam pada manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Afzal, M., Ali, M. 1991. Identification of some prostanoids in Aloe vera extracts. *Planta Medica*. 57:38-40.
- Atherton, P. 1998. Aloe vera: magic or medicine? *Nurs Stand*. 12:49-52, 54.
- Anderson, J.M. 2000. The cellular cascades of wound healing. In J. E. Davies (Ed.), *Bone Engineering*. Toronto: em squared inc., p:81–93.
- Barret, A.M. 1996. Prognosis. In Settle John A. D. *Principles and Practice of Burns Management*. 1st ed. Leeds. UK. p:29-41.
- Bassetti, A., Saia, S. 2001. *The Great Aloe Book. History, Botany, Composition, and Pharmacological Aspects of This Legendary Plant*. USA Edition. First Edition. p:11-148.
- Baswarsiati, Dewi, I.R. 2009. *Potensi dan Manfaat Lidah Buaya. Teknologi untuk Petani*. FEATI. BPTP. Jawa Timur.
- Bisono, Pusponegoro, A.P. 1997. Luka, syok, bencana. Dalam Buku ajar bedah. Jakarta: EGC, p:73-75.
- Bradley, P.R. 1992. *British herbal compendium: a handbook of scientific information on widely used plant drugs/published by the British Herbal Medicine Association and produced by its Scientific Committee*. Bournemouth, Dorset: The Association.
- Brasher, W.J., Zimmermann, E.R., Collings, C.K. 1969. The effects of prednisolone, indomethacin, and Aloe vera gel on tissue culture cells. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 27:122-8.
- Chen, Y.H., Lin, S.J., Lin, F.Y., Wu, T.C., Tsao, C.R., Huang, P.H., Liu, P.L., Chen, Y.L., Chen, J.W. 2007. High Glucose Impairs Early and Late Endothelial Progenitor Cells by Modifying Nitric Oxide Related but Not Oxidative Stress–Mediated Mechanisms. *Diabetes*. 56,1559–1568.
- Chithra, P., Sajithlal, G.B., Chandrakasan, G. 1998. Influence of Aloe vera on collagen turnover in healing of dermal wounds in rats. *Indian J Exp Biol*. 36:896-901.
- Chopra, R.N. 1994. *Chopra's Indigenous Drugs Of India*. 2nd ed. Calcutta: Academic Publishers. p. 61-62.

- Cindy, J.M., Loomans, Eelco, J.P., de Koning, Frank, J.T.S., Maarten, B.R., Caroline, V., Hetty, C.B., Marianne, C.V., Branko, B., Ton, J.R., Anton, J.Z. 2004. Endothelial Progenitor Cell Dysfunction A Novel Concept in the Pathogenesis of Vascular Complications of Type 1 Diabetes. *Diabetes*. 53,195–199.
- Corral, C.J., Siddiqui, A., Wu, L., Farrell, C.L., Lyons, D., Mustoe, T.A. 1999. Vascular endothelial growth factor is more important than basic fibroblastic growth factor during ischemic wound healing. *Arch Surg*. 134:200-205.
- Davis, R.H., Donato, J.J., Hartman, G.M., Haas, R.C. 1994. Anti-inflammatory and wound healing activity of a growth substance in Aloe vera. *J-Am-Podiatr-Med-Assoc*. 84(2): 77-81.
- Davis, R.H. 1997. Aloe Vera: History, Science, and Medicinal Uses. www.HealingAloe.com. p:8-9.
- DiPietro, L.A., Burns, A.L. (Eds). 2003. Wound Healing: Methods and Protocols. *Methods in Molecular Medicine*. Totowa, N.J. Humana Press. Electronic book.
- 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.
- Field, C., Kerstein, M. 1994. Overview of wound healing in a moist environment. *Am J Surg*. p: 167;2.
- Ferreira, M., Teixeira, M., Silva, E., Selores, M. 2007. Allergic contact dermatitis to Aloe vera. *Contact Dermatitis*, Volume 57. Issue 4. October. p:278–279.
- Folkman, J., Shing, Y. 2008. Angiogenesis. *J Biol Chem*. 267:10931-4.
- Gallagher, J., Gray, M. 2003. Is aloe vera effective for healing chronic wounds?. *J Wound Ostomy Continence Nurs*. 30, 6871.
- Gurtner, G.C. 2007. Wound healing, normal and abnormal. In: Thorne CH, Beasley, R.W., Aston, S.J., Bartlett, S.P., Gurtner, G.C., Spear, S.L. (Eds). *Grabb and Smith's plastic surgery*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; p:15-22.
- Hamman, J.H. 2008. Composition and Applications of Aloe vera Leaf Gel. *Molecules*. 13,1599-1616.

- Heggers, J., Pelley, R., Robson, M. 1993. Beneficial effects of Aloe in wound healing. *Phytotherapy Research*. 7:S48-S52.
- Heggers, J., Kucukcelebi, A., Stabenau, C., Ko, F., Broemeling, L., Robson, M. 1995. Wound healing effects of aloe gel and other topical antibacterial agents on rat skin. *Phytotherapy Research*. 9:455-57.
- Herndorn, D.N. 2002. *Total Burn Care*. 2nd ed. Saunders. London. p: 101-169.
- Hettiaratchy, S., Dziewulski, P. 2004. ABC of burns. The first in a series of 12 articles. *BMJ*. 328:1366–8.
- Hidayat, T.S.N., Noer, M.S., Saputro, I.D. 2012. Five years retrospective study of burns in Dr. Soetomo General Hospital Surabaya. Department of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery. In PIT PERAPI Medan 2012.
- Hoeben, A., Landuyt, B., Highley, M.S., Wildiers, H., Van Oosterom, A.T., De Bruijn, E.A. 2004. Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis. Leuven. Belgium. E-mail: bart.landuyt@med.kuleuven.ac.be.
- Hurle, A., Quintana, D.S., Siew, Y., Bernabeu, E., Murillo, M., Climent, V. 2009. Capillary supply to the sinus node in subjects with long-term atrial fibrillation.
- Jettanacheawchankit, S., Sasithanasate, S., Sangvanich, P., Banlunara, W., Thunyakitpisal, P. 2009. Acemannan stimulates gingival fibroblast proliferation; expressions of keratinocyte growth factor-1, vascular endothelial growth factor, and type I collagen; and wound healing. *J Pharmacol Sci*. April;109(4):525-31.
- Jimenez-Magallanes, L., Sumano-Lopez, H. 1995. The use of aloe vera for the treatment of teat cracks and lacerations in dairy cattle. *Veterinaria Mexico*. 26:271-2.
- Kiernan, J.A. 2008. *Histological and histochemical methods: theory and practice*. 4th ed. Bloxham, UK: Scion.
- Klein, A.D., Penneys, N.S. 1988. Aloe vera. *J Am Acad Dermatol*. 18:714-20.
- Klein, M.B. 2007. Thermal, chemical, and electrical injuries. In: Thorne CH, Beasley, R.W., Aston, S.J., Bartlett, S.P., Gurtner, G.C., Spear, S.L. (Eds). *Grabb and Smith's plastic surgery*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; p:132-149.

- Kusmawati, A., Pratiwi, I.B. 2008. Pengambilan Polisakarida Acemannan dari *Aloe vera* menggunakan Etanol sebagai Pengendap. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Lee, M., Yoon, S., Lee, S., Chung, M., Park, Y. 1995. In vivo angiogenic activity of dichloromethane extracts of Aloe vera gel. Archives of Pharmacal Research. 18:332-35.
- Lee, M.J., Lee, O.H., Yoon, S.H., et al. 1998. In vitro angiogenic activity of Aloe vera gel on calf pulmonary artery endothelial (CPAE) cells. Arch Pharm Res. 21:260-5.
- Laura, K.S., Parnell, M.S., Anthony, D., Chinnah, I., Tizard R. 2002. Use of Mouse Footpad Model to Test Effectiveness of Wound Dressings. Diabetes spectrum. 14 (5): 199-208.
- Lorentz, H. P., Longaker, M. T. 2006. Wound Healing: Repair Biology and Wound and Scar Treatment. In: Mathes, S. J. and Hentz, V. R., (Eds). *Plastic surgery*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 209-234.
- Malick, M.H., Carr, J.A. 1982. Manual on management of the burn patient. Pittsburgh. USA. p:2-9.
- Marshall, J.M. 2000. Aloe vera gel: what is the evidence? Pharm J. 244:360-362.
- Marzoeki, D. 1993. Ilmu bedah luka dan perawatannya (luka, aseptis/antiseptis dan desinfektan, luka bakar). Surabaya: Airlangga University Press, p:3-9.
- Marzoeki, D. 2006. Overview luka bakar. In Noer, M.S. (eds) Penanganan luka bakar. Airlangga University Press. Surabaya. p:1-2.
- Meyer T.N., Silva A.L. 1999. A standard burn model using rats. Acta Cir Bras. São Paulo. URL: <http://www.scielo.br/acb>.
- Mileski, W., Borgstrom, D., Lightfoot, E., et al. 1992. Inhibition of Leukocyte-endothelial adherence Following Thermal Injury. J. Surg. Res. 52:334.
- Moenadjat, Y. 2003. Luka Bakar: Klinis Praktis. Edisi revisi. Balai Penerbit FKUI. Jakarta. p: 4, 23-28.
- Nelson, R.D., Hasslen, S.R., Ahrenholz, D.H., et al. 1987. Mechanisms of Loss of Human Neutrophil Chemotaxis Following Thermal Injury. J. Burn Care Rehabil. 8:496.

- Ni, Y., Turner, D., Yates, K.M., Tizard, I. 2004 Isolation and characterisation of structural components of *Aloe vera* L. leaf pulp. *Int. Immunopharmacol.* 4, 1745-1755.
- Noer, M.S. 2006. Penanganan luka bakar akut. In Noer, M.S. (eds) Penanganan luka bakar. Airlangga University Press. Surabaya. p: 3-5.
- Perdanakusuma, D.S. 2006. Penanganan luka pada luka bakar. In Noer, M.S. (eds) Penanganan luka bakar. Airlangga University Press. Surabaya. p: 83, 89.
- Radmilo, A. 2007. Aloe. Aloe Vera Community of Canada. February 20. http://www.Aloeveracanada.ca/about_av.html.
- Ramachandra, C.T., Rao, P.S. 2008. Processing of Aloe Vera Leaf Gel: A Review. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences.* 3(2):502-510.
- Ramamoorthy, L., Kemp, M.C., Tizard, I.R. 1996. Acemannan, a beta-(1,4)-acetylated mannan, induces nitric oxide production in macrophage cell line RAW 264.7. *American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 50, 878- 884.
- Regan, M.C., Barbul, A. 1994. The cellular biology of wound healing. In (eds) Redl, H., Schlag, G. Wound healing. Berlin: Springer-Verlag, 1: 2-13.
- Rohrich, R.J., Robinson, J.B. 1999. Wound healing. *Selected readings in plastic surgery* 9 (3): 1-17.
- Saeed, M.A., Ahmad, I., Yaqub, U., Akbar, S., Waheed, A., Saleem, M., Nasir-ud-Din. 2003. Aloe vera: a plant of vital significance. *Quarterly Science Vision* Vol.9 No.1-2 Jul-Dec.
- Sargowo, D., Handaya, A.Y., Tjokroprawiro A. 2012. The effect of aloe gel in enhancing angiogenesis in diabetic wound healing. Postgraduate Program. Brawijaya Medical School. Malang. email : djanggan@yahoo.com.
- Schultz, G.S. 2007. The physiology of wound bed preparation. In (eds) Granick, M.S., Ganelli, R.L. *Surgical wound healing and management.* New York: Informa Healthcare USA Inc., p:1-5.
- Shai, A., Maibach, H.I. 2005. Wound Healing and Ulcers of the Skin. *Diagnosis and Therapy. The Practical Approach.* Heidelberg. Germany. p:7-15.
- Simons, M., Rubanyi, G.M. 2007. *Modern concepts in angiogenesis.* Singapore: Imperial College Press. p: 356-360.

- Talmadge, J., Chavez, J., Jacobs, L., Munger, C., Chinnah, T., Chow, J.T., Williamson, D., Yates, K. 2004. Fractionation of Aloe vera L. inner gel, purification and molecular profiling of vactivity. *Int. Immunopharmacol.* 4, 1757-1773.
- Tyler, V.E. 1992. *The honest herbal: a sensible guide to the use of herbs and related remedies.* New York: Pharmaceutical Products Press. Xviii. 375.
- Warden, G.D. Jr., Mason, A.D., Pruitt, B.A. Jr. 1974. Evaluation of Leukocyte Chemotaxis in vitro in Thermally injured Patients. *J. Clin. Invest.* 54:1001.
- Xu, R.X. 2004. *Burns regenerative medicine and therapy.* Reinhardt Druck, Basel. Switzerland. p:13-16.

Lampiran 1 : Dokumentasi Kegiatan Penelitian

1. Bahan Penelitian

Ekstrak gel aloe vera yang dibuat di laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.



a. Pohon aloe vera barbadensis



b. Pencucian dengan kalium hipoklorit



c. Gel aloe vera



d. Ekstrak gel aloe vera

2. Cara Penelitian

- Dipilih 12 ekor tikus jantan *Rattus novergicus* strain *Wistar* sehat yang berusia sekitar 3 bulan dengan berat sekitar 250-300 gram. Tikus diberikan premedikasi sulfas atropin 0.04 mg/kg berat badan, kemudian dibius dengan menggunakan ketamine 10% 20 mg/kg berat badan dikombinasi dengan xylazine 2% intramuskular.
- Masing-masing tikus dicukur bulunya pada bagian punggung, dibuat 2 desain untuk luka bakar berukuran 2 x 2 cm pada punggung kanan dan kiri.



- Desinfeksi dengan solusio *povidon iodine* 10% dan Savlon 1 : 30. Dibuat luka bakar derajat III dengan pelat panas (*brass bar*) ukuran 2x2cm sekitar 20 detik.



Brass bar uk 2x2 cm

Direbus s/d suhu 100⁰C



Punggung kiri: kontrol



Punggung kanan: perlakuan

- 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 gel aloe vera.



Rawat dengan NaCl 0.9%



Rawat dengan ekstrak gel aloe vera

- Masing-masing luka ditutup dengan *transparent dressing*. 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.



3. Pengambilan Data

- Spesimen diambil dari setiap luka bakar dengan cara eksisi pada bekas luka bakar di punggungnya dengan ukuran masing-masing spesimen sekitar 2x2 cm sampai sedalam otot. Spesimen diambil pada hari ke-3 (fase inflamasi) dan hari ke-10 (fase proliferasi), masing-masing dikorbankan 6 ekor tikus pada setiap fase.



- 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 menggunakan mikroskop cahaya pengukur mikrometer *graticule* pada pembesaran 400x.



**Lampiran 2 : Hasil Penghitungan Jumlah Makrofag, Jumlah Fibroblas,
Ketebalan Kolagen, Jumlah Lumen Pembuluh Darah**

KODE	HE			MT
	Makrofag (jumlah)	Fibroblas (jumlah)	Kolagen (ketebalan)	Lumen pembuluh darah (jumlah)
Perlakuan				
Ae.1 H3	224	273	760	89
Ae.2 H3	193	408	280	187
Ae.3 H3	260	508	700	165
Ae.4 H3	280	317	560	182
Ae.5 H3	201	224	720	115
Ae.6 H3	240	280	460	94
Kontrol				
Ke.1 H3	137	210	700	59
Ke.2 H3	161	203	840	73
Ke.3 H3	113	264	640	89
Ke.4 H3	94	194	640	30
Ke.5 H3	270	351	800	68
Ke.6 H3	10	115	800	16
Perlakuan				
a.1 H10	168	331	660	89
a.2 H10	238	259	840	80
a.3 H10	298	413	800	62
a.4 H10	337	371	520	105
a.5 H10	152	317	440	117
a.6 H10	139	237	400	127
Kontrol				
Kx.1 H10	222	451	420	217
Kx.2 H10	123	250	420	194
Kx.3 H10	15	18	300	24
Kx.4 H10	43	125	520	31
Kx.5 H10	60	142	520	48
Kx.6 H10	106	200	500	58

Keterangan:

Jumlah makrofag : per 10 HPF

Jumlah fibroblas : per 10 HPF

Ketebalan kolagen : mikrometer

Jumlah lumen p.darah : per 10 HPF

Lampiran 3 : Hasil Analisis Statistik

Pengamatan H3

NPar Tests kelompok kontrol

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		makrof ag Kontrol	Fibroblast Kontrol	Kolagen Kontrol	Lumen pembuluh darah Kontrol
N		6	6	6	6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	130,8333	222,8333	736,6667	55,8333
	Std. Deviation	85,54628	78,91620	88,01515	27,59287
Most Extreme Differences	Absolute	,196	,231	,264	,212
	Positive	,196	,231	,197	,159
	Negative	-,167	-,191	-,264	-,212
Kolmogorov-Smirnov Z		,479	,566	,647	,520
Asymp. Sig. (2-tailed)		,976	,905	,797	,950

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

NPar Tests kelompok perlakuan

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		makrof ag Perlakuan	Fibroblast Perlakuan	Kolagen Perlakuan	Lumen pembuluh darah Perlakuan
N		6	6	6	6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	233,0000	335,0000	580,0000	138,6667
	Std. Deviation	33,74018	104,66327	185,04054	44,56306
Most Extreme Differences	Absolute	,162	,235	,242	,223
	Positive	,162	,235	,165	,202
	Negative	-,122	-,144	-,242	-,223
Kolmogorov-Smirnov Z		,397	,575	,592	,546
Asymp. Sig. (2-tailed)		,998	,895	,875	,927

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test kelompok perlakuan dan kontrol

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	makrof ag Perlakuan	233,0000	6	33,74018	13,77437
	makrof ag Kontrol	130,8333	6	85,54628	34,92412
Pair 2	Fibroblast Perlakuan	335,0000	6	104,66327	42,72860
	Fibroblast Kontrol	222,8333	6	78,91620	32,21740
Pair 3	Kolagen Perlakuan	580,0000	6	185,04054	75,54248
	Kolagen Kontrol	736,6667	6	88,01515	35,93203
Pair 4	Lumen pembuluh darah Perlakuan	138,6667	6	44,56306	18,19279
	Lumen pembuluh darah Kontrol	55,8333	6	27,59287	11,26474

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	makrof ag Perlakuan - makrof ag Kontrol	102,16667	109,38998	44,65827	-12,63107	216,96441	2,288	5	,071
Pair 2	Fibroblast Perlakuan - Fibroblast Kontrol	112,16667	133,06001	54,32152	-27,47125	251,80459	2,065	5	,094
Pair 3	Kolagen Perlakuan - Kolagen Kontrol	-156,66667	245,73699	100,32170	-414,552	101,21849	-1,562	5	,179
Pair 4	Lumen pembuluh darah Perlakuan - Lumen pembuluh darah Kontrol	82,83333	44,49906	18,16667	36,13443	129,53224	4,560	5	,006

Pengamatan H10

NPar Tests kelompok kontrol

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		makrof ag Kontrol	Fibroblast Kontrol	Kolagen Kontrol	Lumen pembuluh darah Kontrol
N		6	6	6	6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	94,8333	197,6667	446,6667	95,3333
	Std. Deviation	73,97680	146,68424	85,47904	86,48622
Most Extreme Differences	Absolute	,185	,194	,234	,334
	Positive	,185	,194	,195	,334
	Negative	-,140	-,143	-,234	-,206
Kolmogorov-Smirnov Z		,453	,475	,572	,817
Asymp. Sig. (2-tailed)		,986	,978	,899	,516

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

NPar Tests kelompok perlakuan

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		makrof ag Perlakuan	Fibroblast Perlakuan	Kolagen Perlakuan	Lumen pembuluh darah Perlakuan
N		6	6	6	6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	222,0000	321,3333	610,0000	96,6667
	Std. Deviation	82,41602	66,30133	185,79559	24,25421
Most Extreme Differences	Absolute	,244	,160	,186	,134
	Positive	,244	,160	,186	,124
	Negative	-,157	-,141	-,180	-,134
Kolmogorov-Smirnov Z		,597	,391	,455	,329
Asymp. Sig. (2-tailed)		,868	,998	,986	1,000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test kelompok perlakuan dan kontrol

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	makrof ag Perlakuan	222,0000	6	82,41602	33,64620
	makrof ag Kontrol	94,8333	6	73,97680	30,20090
Pair 2	Fibroblast Perlakuan	321,3333	6	66,30133	27,06741
	Fibroblast Kontrol	197,6667	6	146,68424	59,88359
Pair 3	Kolagen Perlakuan	610,0000	6	185,79559	75,85073
	Kolagen Kontrol	446,6667	6	85,47904	34,89667
Pair 4	Lumen pembuluh darah Perlakuan	96,6667	6	24,25421	9,90174
	Lumen pembuluh darah Kontrol	95,3333	6	86,48622	35,30785

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	makrof ag Perlakuan - makrof ag Kontrol	127,16667	137,97886	56,32963	-17,63327	271,96660	2,258	5	,074
Pair 2	Fibroblast Perlakuan - Fibroblast Kontrol	123,66667	185,07044	75,55469	-70,55285	317,88618	1,637	5	,163
Pair 3	Kolagen Perlakuan - Kolagen Kontrol	163,33333	260,89589	106,51030	-110,460	437,12678	1,533	5	,186
Pair 4	Lumen pembuluh darah Perlakuan - Lumen pembuluh darah Kontrol	1,33333	95,71973	39,07742	-99,11836	101,78503	,034	5	,974

General Linear Model

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
Kelompok 1,00	H3	6
2,00	H10	6

Descriptive Statistics

	Kelompok	Mean	Std. Deviation	N
makrof ag Kontrol	H3	130,8333	85,54628	6
	H10	94,8333	73,97680	6
	Total	112,8333	78,53295	12
Fibroblast Kontrol	H3	222,8333	78,91620	6
	H10	197,6667	146,68424	6
	Total	210,2500	113,06484	12
Kolagen Kontrol	H3	736,6667	88,01515	6
	H10	446,6667	85,47904	6
	Total	591,6667	172,56531	12
Lumen pembuluh darah Kontrol	H3	55,8333	27,59287	6
	H10	95,3333	86,48622	6
	Total	75,5833	64,58744	12
makrof ag Perlakuan	H3	233,0000	33,74018	6
	H10	222,0000	82,41602	6
	Total	227,5000	60,31508	12
Fibroblast Perlakuan	H3	335,0000	104,66327	6
	H10	321,3333	66,30133	6
	Total	328,1667	83,83516	12
Kolagen Perlakuan	H3	580,0000	185,04054	6
	H10	610,0000	185,79559	6
	Total	595,0000	177,48239	12
Lumen pembuluh darah Perlakuan	H3	138,6667	44,56306	6
	H10	96,6667	24,25421	6
	Total	117,6667	40,63436	12

Multivariate Tests^b

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	,999	305,812 ^a	8,000	3,000	,000
	Wilks' Lambda	,001	305,812 ^a	8,000	3,000	,000
	Hotelling's Trace	815,498	305,812 ^a	8,000	3,000	,000
	Roy's Largest Root	815,498	305,812 ^a	8,000	3,000	,000
Kelompok	Pillai's Trace	,950	7,124 ^a	8,000	3,000	,067
	Wilks' Lambda	,050	7,124 ^a	8,000	3,000	,067
	Hotelling's Trace	18,999	7,124 ^a	8,000	3,000	,067
	Roy's Largest Root	18,999	7,124 ^a	8,000	3,000	,067

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	makrof ag Kontrol	3888,000 ^a	1	3888,000	,608	,454
	Fibroblast Kontrol	1900,083 ^b	1	1900,083	,137	,719
	Kolagen Kontrol	252300,000 ^c	1	252300,000	33,521	,000
	Lumen pembuluh darah Kontrol	4680,750 ^d	1	4680,750	1,136	,312
	makrof ag Perlakuan	363,000 ^e	1	363,000	,092	,768
	Fibroblast Perlakuan	560,333 ^f	1	560,333	,073	,793
	Kolagen Perlakuan	2700,000 ^g	1	2700,000	,079	,785
	Lumen pembuluh darah Perlakuan	5292,000 ^h	1	5292,000	4,112	,070
Intercept	makrof ag Kontrol	152776,333	1	152776,333	23,889	,001
	Fibroblast Kontrol	530460,750	1	530460,750	38,240	,000
	Kolagen Kontrol	4200833,333	1	4200833,333	558,127	,000
	Lumen pembuluh darah Kontrol	68554,083	1	68554,083	16,637	,002
	makrof ag Perlakuan	621075,000	1	621075,000	156,624	,000
	Fibroblast Perlakuan	1292320,333	1	1292320,333	168,378	,000
	Kolagen Perlakuan	4248300,000	1	4248300,000	123,569	,000
	Lumen pembuluh darah Perlakuan	166145,333	1	166145,333	129,088	,000
Kelompok	makrof ag Kontrol	3888,000	1	3888,000	,608	,454
	Fibroblast Kontrol	1900,083	1	1900,083	,137	,719
	Kolagen Kontrol	252300,000	1	252300,000	33,521	,000
	Lumen pembuluh darah Kontrol	4680,750	1	4680,750	1,136	,312
	makrof ag Perlakuan	363,000	1	363,000	,092	,768
	Fibroblast Perlakuan	560,333	1	560,333	,073	,793
	Kolagen Perlakuan	2700,000	1	2700,000	,079	,785
	Lumen pembuluh darah Perlakuan	5292,000	1	5292,000	4,112	,070
Error	makrof ag Kontrol	63953,667	10	6395,367		
	Fibroblast Kontrol	138720,167	10	13872,017		
	Kolagen Kontrol	75266,667	10	7526,667		
	Lumen pembuluh darah Kontrol	41206,167	10	4120,617		
	makrof ag Perlakuan	39654,000	10	3965,400		
	Fibroblast Perlakuan	76751,333	10	7675,133		
	Kolagen Perlakuan	343800,000	10	34380,000		
	Lumen pembuluh darah Perlakuan	12870,667	10	1287,067		
Total	makrof ag Kontrol	220618,000	12			
	Fibroblast Kontrol	671081,000	12			
	Kolagen Kontrol	4528400,000	12			
	Lumen pembuluh darah Kontrol	114441,000	12			
	makrof ag Perlakuan	661092,000	12			
	Fibroblast Perlakuan	1369632,000	12			
	Kolagen Perlakuan	4594800,000	12			
	Lumen pembuluh darah Perlakuan	184308,000	12			
Corrected Total	makrof ag Kontrol	67841,667	11			
	Fibroblast Kontrol	140620,250	11			
	Kolagen Kontrol	327566,667	11			
	Lumen pembuluh darah Kontrol	45886,917	11			
	makrof ag Perlakuan	40017,000	11			
	Fibroblast Perlakuan	77311,667	11			
	Kolagen Perlakuan	346500,000	11			
	Lumen pembuluh darah Perlakuan	18162,667	11			

a. R Squared = ,057 (Adjusted R Squared = -,037)

b. R Squared = ,014 (Adjusted R Squared = -,085)

c. R Squared = ,770 (Adjusted R Squared = ,747)

d. R Squared = ,102 (Adjusted R Squared = ,012)

e. R Squared = ,009 (Adjusted R Squared = -,090)

f. R Squared = ,007 (Adjusted R Squared = -,092)

g. R Squared = ,008 (Adjusted R Squared = -,091)

h. R Squared = ,291 (Adjusted R Squared = ,221)

Lampiran 4 : Surat Keterangan Kelaikan Etik

F.LITB.003




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

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

276 / Panke.KKE / X / 2013

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

"Pemberian Topikal Ekstrak Gel Aloe Vera Mempercepat Penyembuhan Luka Bakar Dalam Pada Tikus"

PENELITI UTAMA : Taufiq Sakti Noer Hidayat, dr

PENELITI LAIN : 1. Prof. M. Sjaifuddin Noer, dr., Sp.B, Sp.BP-RE(K)
2. Sitti Rizaliyana, dr., Sp.BP-RE(K)

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

DINYATAKAN LAIK ETIK



KETUA
(Prof. Hari Sukanto, dr., Sp.KK (K)
NIP.19471115 197303 1 001