



## Efek Pemberian Membran Bakiko (Bayam- Kitosan- Kolagen) terhadap Jumlah Fibroblas pada Luka Bakar Derajat II

SHOFI IQDA ISLAMI<sup>1</sup>, AL MUNAWIR<sup>2</sup>, IDA SRISURANI WIJI ASTUTI<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Jember

<sup>2</sup>Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Jember

<sup>3</sup>Laboratorium Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran Universitas Jember  
Alamat email korespondensi [shofiqda@gmail.com](mailto:shofiqda@gmail.com)

### ABSTRACT

*According to WHO data in 2016, every year, about 265,000 deaths occurred due to burns and 38% of burn patients got pathological scars due to delayed wound healing. Glutamine, vitamin C, and linoleic acid in spinach play an important role in wound healing by increasing the formation of granulation tissues including increasing the proliferation of fibroblasts. Chitosan-collagen dressings can also increase the formation of granulation tissue. Increased proliferation of fibroblasts will increase extra cellular matrix synthesis so that the wound heals more quickly. This research explained the effect of merging Spinach-Chitosan-Collagen (Bakiko) as membrane form on total fibroblas in healing process of second degree burns. This research is true experimental laboratories with posttest only control group design. The samples were 27 Rattus Novergicus divided into 9 groups: 3 negative control group (without therapy), 3 positive control group (Bioplacenton), and 3 treatment groups (Bakiko membrane). Second degree burns made by contacting the skin to hot metal plates. Bioplacenton was applied daily on wounds while Bakiko membrane is attached to the wound and replaced every 3 days. The tissue retrieval was done after the termination of the animals on the 3rd, 7th, and 21st days post-burn induction. The tissue was made as histopathologic preparations with HE staining then calculated the total fibroblast cells using imageJ software. By using One Way Anova for homogeneous data and Kruskal Wallis for non homogeneous data. One Way Anova and Kruskal Wallis test showed significant results on the 3rd day ( $p = 0,000$ ) and 7th day ( $p = 0.004$ ). This suggests that there is an effect of Bakiko membrane (spinach-chitosan- collagen) on the total fibroblasts in second degree burns by increasing the number of fibroblast cells at 3rd and 7th day on the proliferation phase of the burn-healing process.*

**Keywords:** Burn wound, spinach, chitosan, collagen

## ABSTRAK

Data WHO tahun 2016 menyebutkan, setiap tahunnya, sekitar 265.000 kematian terjadi akibat luka bakar dan sebanyak 38% pasien luka bakar mengalami jaringan parut patologis akibat penyembuhan luka yang lama. Glutamin, vitamin C, dan *linoleic acid* pada bayam berperan dalam penyembuhan luka dengan meningkatkan pembentukan jaringan granulasi termasuk meningkatkan proliferasi sel fibroblas. Dressing kitosan-kolagen juga dapat meningkatkan pembentukan jaringan granulasi. Peningkatan proliferasi fibroblas akan meningkatkan sintesis *matrix extra cellular* sehingga penyembuhan luka lebih cepat terjadi. Tujuan penelitian ini adalah menjelaskan efek penggabungan Bayam-Kitosan-Kolagen (Bakiko) dalam bentuk membran terhadap jumlah fibroblas pada proses penyembuhan luka bakar derajat II. Jenis penelitian ini adalah *true experimental laboratories* dengan rancangan *post test only control group*. Sampel penelitian adalah 27 ekor tikus putih *Rattus Novergicus* yang dibagi menjadi 9 kelompok yaitu 3 kelompok kontrol negatif (tanpa terapi), 3 kelompok kontrol positif (*Bioplacenton*), dan 3 kelompok perlakuan (membran Bakiko). Induksi luka bakar derajat II dilakukan dengan secara kontak dengan menggunakan pelat logam panas. *Bioplacenton* dioleskan setiap hari pada luka sementara membran Bakiko ditempelkan pada luka dan diganti setiap 3 hari sekali. Pengambilan jaringan dilakukan setelah terminasi hewan coba pada hari ke-3, ke-7, dan ke-21 pasca induksi luka bakar. Jaringan tersebut dibuat preparat histopatologi dengan pewarnaan hematoksilin eosin (HE) kemudian dihitung jumlah sel fibroblas menggunakan *software imageJ*. Analisis data dilakukan menggunakan *One Way Anova* untuk data yang homogen sedangkan data yang tidak homogen akan dianalisis menggunakan *Kruskal Wallis*. Hasil analisis uji *One Way Anova* dan *Kruskal Wallis* menunjukkan hasil yang signifikan pada hari ke-3 ( $p= 0,000$ ) dan ke-7 ( $p=0,004$ ). Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat efek pemberian membran Bakiko (bayam- kitosan- kolagen) terhadap jumlah fibroblas pada luka bakar derajat II dengan meningkatkan jumlah sel fibroblas di hari ke-3 dan ke-7 pada fase proliferasi proses penyembuhan luka bakar.

**Kata kunci** : Luka bakar, bayam, kitosan, kolagen

## **Pendahuluan**

Luka bakar merupakan masalah kesehatan dunia yang berhubungan dengan morbiditas dan mortalitas. Data WHO tahun 2016 menyebutkan, setiap tahunnya, sekitar 265.000 kematian terjadi akibat luka bakar dan hampir setengahnya terjadi di Asia Tenggara, termasuk Indonesia (Puspitasari, 2015). Penelitian yang dilakukan lebih dari 16 tahun menunjukkan LA50 (lethal area 50%) pada kelompok umur 15-44 sebesar 63%. Angka mortalitas akibat luka bakar pada pasien sangat muda dan tua masih menunjukkan peningkatan (Sabiston, 2012).

Salah satu komplikasi yang ditimbulkan oleh luka bakar yaitu terbentuknya jaringan parut patologis. Penelitian yang dilakukan Deitch (1983) menyebutkan bahwa 38% pasien luka bakar mengalami jaringan parut patologis (hipertrofi dan keloid) akibat penyembuhan luka yang lama (OR, 1.15; 95% CI, 1.02-1.29) (Gangemi *et al.*, 2008). Perawatan lokal luka bakar merupakan salah satu faktor yang berperan dalam penyembuhan luka bakar.

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

Penelitian Rahati (2015) menunjukkan bahwa secara signifikan bayam dapat meningkatkan pembentukan jaringan granulasi pada proses penyembuhan luka. Senyawa arginin, glutamin, vitamin C, *linoleic acid*, dan *lechitin* pada bayam memiliki peran penting pada penyembuhan luka dengan berperan dalam meningkatkan pembentukan jaringan granulasi, meningkatkan proliferasi sel fibroblas dan menstimulasi sintesis kolagen (Rahati *et al.*, 2015).

Menurut penelitian Kirichenko (2013) menunjukkan bahwa *dressing* luka bakar menggunakan kitosan-kolagen secara signifikan dapat meningkatkan pembentukan jaringan granulasi. Kitosan memiliki beberapa aktivitas biokimia seperti anti-infeksi, stimulasi angiogenesis, dan aktivasi *growth factor* (Nguyen *et al.*, 2014). Kolagen merupakan unsur utama pada *extracellular matrix* (ECM) yang memiliki efek homeostasis, antigenitas rendah, biokompatibilitas yang baik, dan kekuatan mekanik yang tinggi pada jaringan lunak (Walters dan Stegemann, 2014).

Proses penyembuhan luka bakar terdiri atas fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase *remodelling*. Fibroblas merupakan sel dominan pada minggu pertama penyembuhan luka (Hiadayat, 2013). Fibroblas bertugas mensintesis kolagen sebagai unsur utama *extracellular matrix* yang merupakan penyedia integritas struktural pada luka (Destri *et al.*, 2017). Meningkatnya proliferasi fibroblas, maka sintesis *matrix extra cellular* dan kolagen juga akan meningkat sehingga fase proliferasi dapat

terselesaikan lebih cepat dan masuk pada fase *remodelling* selanjutnya penyembuhan luka akan lebih cepat terjadi.

Tujuan penelitian ini adalah menjelaskan efek penggabungan Bayam-Kitosan-Kolagen (BAKIKO) dalam bentuk membran sebagai terapi luka bakar derajat II dalam gambaran histologis kulit melalui pengamatan jumlah fibroblast pada proses penyembuhan luka.

### **Metode Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah *true experimental laboratories* dengan rancangan *post test only control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimi Fakultas Teknologi Hasil Pangan Politeknik Negeri Jember, Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember, Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pelaksanaan penelitian ini dimulai pada bulan April hingga bulan September 2017.

Populasi penelitian adalah 100 tikus putih (*Rattus Novergicus*) galur wistar jantan. Sampel penelitian sebanyak 27 ekor tikus yang dihitung berdasarkan rumus Federer. Sampel dibagi menjadi tiga kelompok yaitu kelompok kontrol positif, kontrol negatif, dan perlakuan. Kelompok kontrol positif diberi terapi Bioplacenton. Kelompok kontrol negatif tidak diberi terapi. Kelompok perlakuan diberi terapi membran Bakiko.

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

Larutan kolagen dengan konsentrasi 0,41 mg/ml dicampur dengan kitosan dalam 0,5M asam asetat 1:1. Setelah itu, ditambahkan ekstrak bayam 43.9 gram. Membran dibuat dengan menuangkan komposit bayam-kitosan-kolagen ke dalam plat kaca yang didalamnya telah terdapat kasa steril dengan ukuran 2,5 cm x 2,5 cm dan meratakan permukaannya dengan ketebalan  $\pm 1$  mm kemudian didiamkan selama 24 jam pada suhu 4°C.

Tikus diadaptasikan selama empat minggu sebelum diberi perlakuan. Satu kandang diberi sekat pembatas dan berisi dua tikus dengan ukuran kandang 38x30x12 sentimeter. Suhu ruangan pemeliharaan sebesar 27<sup>0</sup> C ( $\pm 3^0$  C). Tikus diberi pakan standar dan diberikan air minum secara *ad libitum*.

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

Setelah tikus di induksi luka bakar, tikus diperlakukan sesuai kelompok perlakuannya. Kelompok K(+) diberi *Bioplacenton* setelah induksi dan kelompok P diberikan membran bakiko). *Bioplacenton* dioleskan setiap hari dan membran bakiko ditempelkan pada luka bakar diganti setiap 3 hari sekali (Kirichenko *et al.*, 2013). Hewan coba diterminasi pada hari ke-3, 7, dan 21 dengan jumlah tiga ekor tikus per kelompok tiap kali terminasi. Setelah itu, jaringan kulit yang diberi perlakuan kemudian diambil dan dibuat preparat histopatologi.

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

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

## Hasil Penelitian

Hasil penampakan jaringan kulit tiap kelompok seperti pada Gambar 1, 2, dan 3. Gambar 1 merupakan tampilan kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan perlakuan pada hari ke-3 setelah induksi luka bakar, gambar 2 merupakan tampilan hari ke-7, dan gambar 3 merupakan tampilan hari-21. Jumlah fibroblas dihitung berdasarkan tampilan gambar histopatologi dengan bantuan *software imageJ*.

Hasil perhitungan rata-rata jumlah sel fibroblas per lapang pandang menunjukkan, pada hari ke-3, kelompok kontrol negatif (K-) memiliki rata-rata jumlah yang terendah dengan  $11,55 \pm 2,94$  sementara yang tertinggi yaitu kelompok kontrol positif (K+) dengan  $19,27 \pm 2,49$ . Terminasi pada hari ke-7 menunjukkan kelompok kontrol negatif (K-) juga memiliki rata-rata jumlah fibroblas per lapang pandang yang terendah dengan  $21,23 \pm 0,97$  sementara yang tertinggi yaitu kelompok kontrol positif (K+)  $36,17 \pm 9,11$ . Terminasi hari ke-21 menunjukkan kelompok kontrol positif (K+) memiliki rata-rata jumlah fibroblas per lapang pandang yang terendah dengan  $18,36 \pm 1,28$  sementara yang tertinggi yaitu kelompok kontrol negatif (K-) dengan  $21,41 \pm 1,51$ . Hasil perhitungan jumlah sel fibroblas seperti pada Tabel 1 berikut.

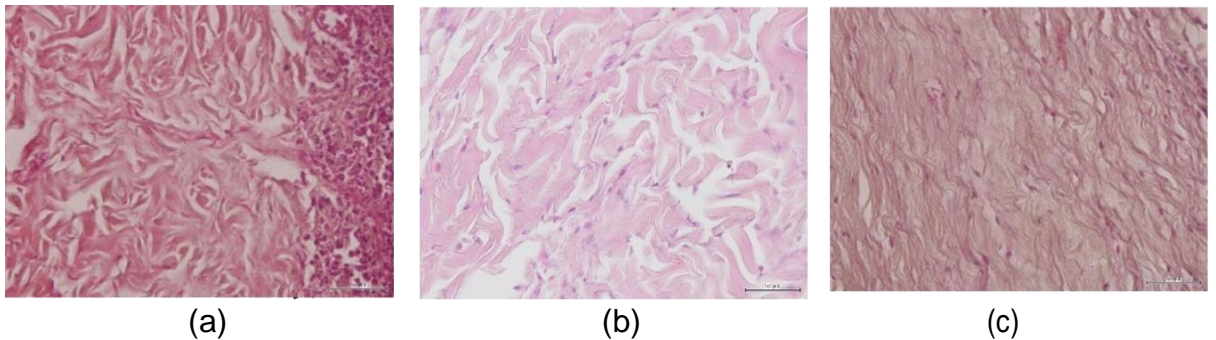


Tabel 1. Hasil rata- rata jumlah fibroblas per lapang pandang

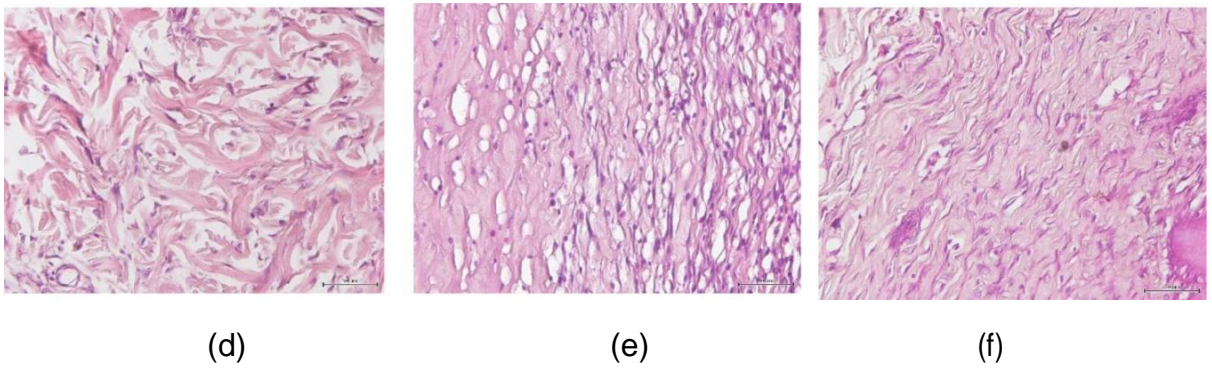
Hari ke-	Kelompok		
	K+	K-	P
3	19,27 ± 2,49	11,55 ± 2,94	17,03 ± 2,22
7	36,17 ± 9,11	21,23 ± 0,97	24,55 ± 4,41
21	18,36 ± 1,28	21,41 ± 1,51	20,36 ± 1,35

Kelompok K+ (kontrol positif), K- (kontrol negatif), dan P (perlakuan)

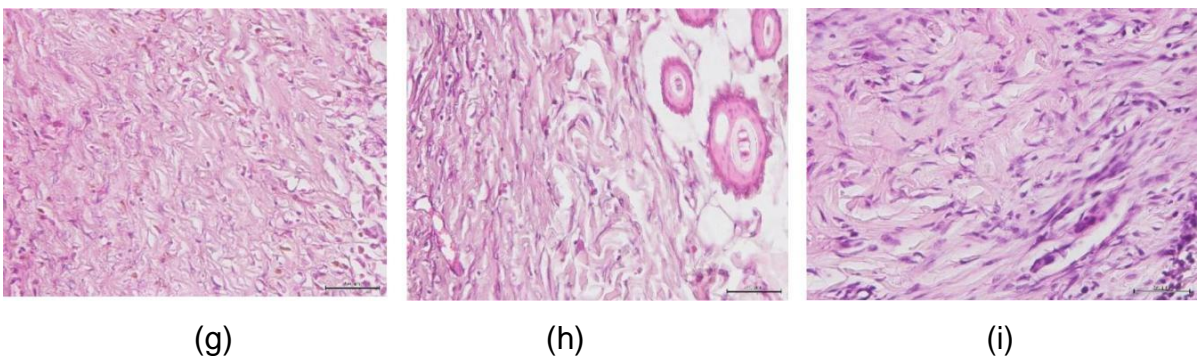
Hasil uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa seluruh data pada masing- masing kelompok baik hari ke-3, ke-7, dan ke-21 terdistribusi normal dengan nilai  $p > 0,05$ . Hasil uji *Lavene's test* menunjukkan bahwa varian data kelompok K+, K-, dan P pada hari ke-3 dan ke-21 homogen dengan nilai signifikansi  $p > 0,05$ . Namun pada ketiga kelompok di hari ke-7 varian data tidak homogen dengan nilai signifikansi  $p < 0,05$ .



Gambar 1. Histopatologi kulit hari ke-3 dengan pewarnaan HE (a)kontrol negatif (tanpa terapi); (b)kontrol positif (terapi *Bioplacenton*); (c)perlakuan (terapi membran Bakiko) diamati dengan mikroskop cahaya perbesaran 400 kali. Gambaran hari ke-3 menunjukkan jumlah fibroblas yang masih sedikit pada kelompok kontrol negatif karena sebagian besar masih dalam bentuk fibrosit yang belum aktif dengan bentuk yang lebih bulat.



Gambar 2. Histopatologi kulit hari ke-7 dengan pewarnaan HE (d)kontrol negatif (tanpa terapi); (e)kontrol positif (terapi *Bioplacenton*); (f)perlakuan (terapi membran Bakiko) diamati dengan mikroskop cahaya perbesaran 400 kali. Gambaran hari ke-7 menunjukkan fibroblas terlihat banyak pada lapang pandang kelompok kontrol positif dan perlakuan dengan ECM yang memenuhi seluruh lapang pandang sementara kelompok ECM pada kontrol negatif masih terlihat jarang.



Gambar 3. Histopatologi kulit hari ke-21 dengan pewarnaan fibroblast (g)kontrol negatif (tanpa terapi); (h)kontrol positif (terapi *Bioplacenton*); (i)perlakuan (terapi membran Bakiko) diamati dengan mikroskop cahaya perbesaran 400 kali. Gambaran hari ke-21 menunjukkan fibroblas terlihat lebih sedikit pada lapang pandang kelompok kontrol positif dan perlakuan dibandingkan dengan kontrol negatif dan sudah mulai inaktif kembali menjadi fibrosit dengan bentuk yang lebih bulat.

Tabel 2. Hasil uji *One Way Anova*

Hari	Kelompok			Signifikansi
	K+	K-	P	
3	19,27 ± 2,49	11,55 ± 2,94	17,03 ± 2,22	0,000*
21	18,36 ± 1,28	21,41 ± 1,51	20,36 ± 1,35	0,065

\*Berbeda secara signifikan  $p < 0,05$

Tabel 3. Hasil uji *Kruskal-Wallis*

Hari	Kelompok			Signifikansi
	K+	K-	P	
7	36,17 ± 9,11	21,23 ± 0,97	28,34 ± 8,11	0,004*

\*Berbeda secara signifikan  $p < 0,05$

Data yang dapat diuji dengan *One Way Anova* adalah kelompok pada hari ke-3 dan ke-21. Berdasarkan hasil uji *One Way Anova*, kelompok pada hari ke-3 berbeda secara signifikan (nilai  $p = 0,000$ ) dengan kelompok K+ memiliki rata-rata jumlah fibroblas per lapang pandang terbanyak disusul dengan kelompok P dan yang paling sedikit yaitu kelompok K-. Kelompok hari ke-21 berbeda secara tidak signifikan (nilai  $p = 0,065$ ) dengan rata-rata jumlah fibroblas per lapang pandang secara berurutan dari yang terbanyak yaitu kelompok K-, kelompok P, dan yang paling sedikit yaitu kelompok K+. Hasil uji *One Way Anova* seperti pada Tabel 2.

Uji *Kruskal-Wallis* dilakukan untuk kelompok hari ke-7. Berdasarkan hasil uji *Kruskal-Wallis* didapatkan bahwa kelompok hari ke-7 berbeda secara signifikan (nilai  $p = 0,001$ ) dengan rata-rata jumlah fibroblas per lapang pandang yang terbanyak yaitu kelompok K+ disusul dengan P dan yang paling sedikit yaitu kelompok K-. Hasil uji *Kruskal-Wallis* seperti terlihat pada Tabel 3.

## Pembahasan

Proses penyembuhan luka bakar memiliki 3 fase, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase *remodelling*. Fase inflamasi diawali dengan mediator inflamasi menarik neutrofil menuju luka, kemudian makrofag mengikuti setelah 48- 72 jam dan menjadi sel dominan setelah hari ke-3 pasca cedera. Makrofag menghasilkan *growth factor* untuk menstimulasi proliferasi fibroblas. Peran fibroblas yaitu bertanggung jawab pada persiapan menghasilkan produk struktur protein yang digunakan selama proses rekonstruksi jaringan. Fase proliferasi berlangsung pada hari ke-4 hingga hari ke-21 pasca cedera jaringan. Fase *remodelling* merupakan fase terjadinya proses penyempurnaan jaringan baru menjadi jaringan yang lebih kuat. Fibroblas mulai meninggalkan jaringan granulasi pada fase ini. Hasil akhir dari fase ini berupa jaringan parut yang pucat, tipis, lemas, dan mudah digerakkan dari dasarnya (Hidayat, 2013).

Penelitian ini ingin mengetahui efek pemberian membran Bakiko terhadap jumlah fibroblas pada fase proliferasi dengan menghitung rata-rata jumlah fibroblas per lapang pandang pada hari ke-3, ke-7, dan ke-21 pasca induksi luka bakar derajat II. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat efek pemberian membran Bakiko terhadap jumlah fibroblas pada luka bakar derajat II. Peningkatan jumlah sel fibroblas kelompok yang diberikan membran Bakiko menunjukkan hasil yang signifikan pada hari ke-3 dan ke-7.

Jumlah fibroblas meningkat pada hari ke-3 dan ke-7 kemudian menurun jumlahnya pada hari ke-21 karena akselerasi proliferasi di hari sebelumnya pada kelompok dengan terapi membran Bakiko dan *Bioplacenton*. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Sezer *et al.* (2007) yang menyatakan bahwa pemberian terapi membran kitosan meningkatkan jumlah fibroblas pada hari ke-7 kemudian jumlahnya menurun pada hari ke-21. Penelitian dengan hasil yang sama juga dilakukan oleh Rahati *et al.* (2015) yang menunjukkan adanya peningkatan pembentukan jaringan granulasi pada hari ke-3 dan ke-7 dengan menggunakan terapi *aqueous extract* bayam tetapi yang membedakan yaitu penelitian melakukan terapi pada ulkus diabetik. Hasil ini menunjukkan bahwa kitosan dan bayam dalam membran Bakiko berperan dalam meningkatkan jumlah sel fibroblas pada fase proliferasi.

Kelompok kontrol negatif yang tidak diberikan terapi memiliki jumlah sel fibroblas yang paling rendah dibandingkan kelompok kontrol positif dengan terapi *Bioplacenton* dan kelompok perlakuan dengan terapi membran Bakiko pada fase proliferasi hari ke-3 dan ke-7. Penelitian lain juga membuktikan bahwa peningkatan jumlah fibroblas pada kelompok dengan terapi kitosan lebih tinggi dari pada kelompok tanpa terapi. Hal tersebut karena kitosan memiliki kemampuan untuk meningkatkan paruh waktu *basic Fibroblast Growth Factor* (bFGF) dengan cara melindunginya agar tidak terdegradasi oleh panas atau enzim-enzim yang mungkin merusaknya (Putri dan Tasminatun, 2012).

Kelompok kontrol negatif menunjukkan peningkatan jumlah fibroblas ketika kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan menunjukkan penurunan jumlah sel fibroblas pada hari ke-21. Kelompok kontrol negatif pada penelitian ini tidak diberikan terapi apapun. Hasil ini sesuai dengan penelitian Putri dan Tasminatun (2012) yang menunjukkan bahwa pada akhir fase proliferasi, jumlah sel fibroblas pada kelompok yang tidak diberi terapi lebih tinggi dibandingkan kelompok yang diberikan terapi kitosan. Hasil ini menandakan fase proliferasi belum selesai pada kelompok yang tidak diberi terapi tersebut.

*Bioplacenton* dan membran Bakiko memiliki beberapa efek yang dibutuhkan dalam perawatan luka bakar antara lain bakteriosida dan dapat meningkatkan proliferasi sel. *Bioplacenton* sebagai terapi pada kelompok kontrol positif merupakan merk komersil yang mengandung ekstrak plasenta 10%, neomisin sulfat 0.5%, dan air dalam bentuk gel (Silalahi dan Surbakti, 2015). Ekstrak plasenta dalam *Bioplacenton* juga dapat menstimulasi proliferasi sel (Dewi, 2010). Hal sama terdapat dalam membran Bakiko, yaitu kitosan memiliki efek anti-bakteri dan anti-fungi serta dapat melindungi *growth factor* yang mengaktifkan proliferasi sel (Wardono *et al.*, 2012; Chhabra *et al.*, 2016).

Peningkatan jumlah fibroblas yang signifikan pada kelompok perlakuan yang diberikan terapi membran Bakiko membuktikan bahwa bayam mengandung sejumlah senyawa yang dibutuhkan dalam proses penyembuhan luka bakar. Bayam mengandung berbagai senyawa aktif yang berperan dalam peningkatan proliferasi fibroblas pada penyembuhan

luka, seperti arginin, glutamin, vitamin C, flavonoid, dan zink. Glutamin merupakan asam amino yang menjadi sumber energi utama pada proliferasi sel. Bayam juga kaya vitamin C yang dapat meningkatkan pembentukan kolagen, fibroblas, dan pembuluh darah. Zink pada bayam merupakan *co-factor* RNA dan DNA-polimerasi yang keduanya berperan dalam sintesis DNA, sintesis protein, dan proliferasi sel (Rahati *et al.*, 2012).

Hasil ini juga menunjukkan bahwa kolagen dan kitosan dalam membran Bakiko dapat meningkatkan proliferasi fibroblas. Kitosan merupakan media yang baik untuk pertumbuhan sel dan memiliki efek bakteriostatik. Kitosan juga dapat mendukung pembentukan kolagen, mencegah pembentukan *scar* dan dapat menghasilkan efek analgesik (Kirichenko *et al.*, 2012). Kolagen mendukung pembentukan fibroblas dengan meningkatkan kontraksi selular, diferensiasi, dan aktivasi seluler untuk memberi mendukung struktural (Elgharably *et al.*, 2014).

Peningkatan proliferasi fibroblas pada proses penyembuhan luka diharapkan dapat mempercepat penyembuhan luka bakar. Akselerasi proliferasi fibroblas akan menghasilkan eliminasi fibroblas yang lebih cepat dan menandakan luka yang sembuh. Hari ke-3 merupakan awalnya mulai diinduksi proliferasi fibroblas oleh *growth factor* yang dihasilkan makrofag. Hari ke-7 pasca luka termasuk dalam fase proliferasi yang pada fase ini jumlah sel fibroblas mencapai puncaknya di jaringan dan menjadi sel dominan sementara hari ke-21 merupakan akhir dari fase proliferasi

sehingga diharapkan jumlah sel fibroblas telah menurun karena akan segera masuk pada fase *remodelling* (Hidayat, 2013).

Penelitian ini memiliki beberapa kelemahan, diantaranya belum diketahui dosis membran Bakiko yang efektif untuk penyembuhan luka bakar derajat II sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan dosis bertingkat. Pengecatan dengan menggunakan HE (hematoksilin eosin) kurang sensitif terhadap fibroblas sehingga perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan pewarnaan yang lebih spesifik yaitu *Masson's trichrome* yang memperlihatkan warna kemerahan pada fibroblas atau pewarnaan yang lebih spesifik untuk fibroblas yaitu *Vimentin* yang memberikan warna gelap pada sel dan jaringan selain fibroblas. Jumlah hari pengamatan juga perlu ditambahkan untuk mengetahui terjadinya puncak jumlah fibroblas karena pada beberapa teori dan penelitian mengenai luka bakar menyebutkan bahwa puncak jumlah fibroblas yaitu hari ke-14 setelah terjadi luka bakar.

## **Kesimpulan**

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



## **Ucapan Terimakasih**

Pada kesempatan ini peneliti ingin mengucapkan terimakasih kepada dr. Al Munawir, M.Kes, Ph.D dan dr. Ida Srisurani Wiji Astuti, M.Kes atas bimbingan yang diberikan hingga tersusun artikel penelitian ini.

## Daftar Pustaka

- Burhanudin, F. N. 2014. Uji Efektifitas Formulasi Gel Ekstrak Daun Cermai (*Phyllanthus acidus* L.) Terhadap Lama Kesembuhan Luka Bakar Pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) Jantan. *Skripsi*. Semarang: Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Ngudi Waluyo Semarang.
- Chhabra, P., P. Tyagi, A. Bhatnagar, M. Gaurav, dan A. Kumar. 2016. *Optimization, Characterization, and Efficacy Evaluation of 2% Chitosan Scaffold for Tissue Engineering and Wound Healing*. *J Pharm Bioallied Sci*. 8(4): 300–308.
- Destri, C., I. K. Sudiana, dan J. Nugraha. 2017. Potensi *Jatropha multifida* terhadap Jumlah Fibroblas pada Aphthous Ulcer Mukosa Mulut Tikus. *Jurnal Biosains Pascasarjana*. 19(1).
- Dewi, S. P. 2010. Perbedaan Efek Pemberian Lendir Bekicot (*Achatina fulica*) dan Gel *Bioplacenton* terhadap Penyembuhan Luka Bersih pada Tikus Putih. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Elgharably, H., K. Ganesh, J. Dickerson, S. Khanna, M. Abas, P. D. Ghatak, S. Dixit, V. Bergdall, S. Roy, dan C. K. Sen. 2014. A Modified Collagen Gel Dressing Promotes Angiogenesis in A Preclinical Swine Model of Chronic Ischemic Wounds. *Wound Healing Society*. (22): 720-729.
- Gangemi, E. N., D. Gregori, P. Berchiolla, E. Zingarelli, M. Cairo, D. Bolero, J. Ganem, R. Capocelli, F. Cuccuru, P. Cassano, D. Risso, dan M. Stella. 2008. Epidemiology and Risk Factors for Pathologic Scarring After Burn Wounds. *Arch Facial Plast Surg*. 10(2):93-102.
- Hidayat, T. S. N. 2013. Peran Topikal Ekstrak Gel Aloe Vera Pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat Dalam Pada Tikus. *Tesis*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Kirichenko, A. K, I. N. Bolshakov, A. E. Ali-Riza, dan A. A. Vlasov. 2013. Morphological Study of Burn Wound Healing with the Use of Collagen-Chitosan Wound Dressing. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 154(5): 692-695.
- Nguyen, V. Q., I. M. Kinoda, H. Hattori, S. Nakamura, T. Ono, Y. Miyahira, dan T. Matsui. 2014. Development of Antimicrobial Biomaterials Produced from Chitin-nanofiber Sheet/ Silver Nanoparticle Composites. *Journal of Nanobiotechnology*.
- Putri, F. R. dan S. Tasminatun. 2012. Efektivitas Salep Kitosan terhadap Penyembuhan Luka Bakar Kimia pada *Rattus novergicus*. *Mutiara Medika*. 12(1): 24-30.
- Puspitasari, L. 2015. Pengaruh Ekstrak dan Serbuk Mentimun (*Cucumis sativus*) terhadap Jumlah Makrofag pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat II B pada Tikus Wistar. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Rahati, S., M. Eshraghian, A. Ebrahimi, dan H. Pishva. 2015. Effect of Spinach Aqueous Extract on Wound Healing in Experimental Model Diabetic Rats with Streptozotocin. *J Sci Food Agric*. 2016(96): 2337-2343.
- Sabiston, D. C. 1987. *Sabiston's Essentials of Surgery*. Terjemahan oleh P. Andrianto dan I. S. Timan. 2012. *Buku Ajar Bedah*. Jakarta: EGC.
- Sezer A. D., Hatipolu F., Cevher E., Ourtan Z., Ba A. L., Akbua J. Chitosan Film Containing Fucoidan as a Wound Dressing for Dermal Burn Healing: Preparation and In Vitro/In Vivo Evaluation. *AAPS Pharm Sci Tech*. 2007; 8 (2):39.

- Silalahi, J. dan C. Surbakti. 2015. Burn Wound Healing Activity of Hydrolyzed Virgin Coconut Oil. *International Journal of PharmTech Research*. 8(1): 67-73.
- Walters, B. D. dan J. P. Stegemann. 2014. Strategies for Directing the Structure and Function of 3D Collagen Biomaterials across Length Scales. *Acta Biomater*. 10(4): 1488-1501.
- Wardono, A. *Pengaruh Kitosan Secara Topikal Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Kimiawi pada Kulit Tikus Putih (Rattus Novergicus) Terinduksi Asam Sulfat*. KTI. Program Sarjana Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah. Yogyakarta. 2009.