

PENGARUH PEMBERIAN GEL KUERSETIN TERHADAP JUMLAH FIBROBLAS DAN RE-EPITELISASI DALAM PROSES PENYEMBUHAN LUKA BAKAR DERAJAT IIA PADA TIKUS JANTAN

(Effect of Quercetin Gel On Fibroblast Cells Count and Reepithelialization in Healing Process Burns Grade IIA In Male Rats)

(Submitted : 30 Agustus 2017, Accepted : 15 September 2017)

Noor Cahaya*, Errenna Erfenna, Dina Rahmawanty

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Lambung Mangkurat

*Email: noorcahaya@ulm.ac.id

ABSTRAK

Luka bakar adalah kerusakan jaringan pada kulit akibat terpajan panas dan sering ditemukan seperti luka bakar derajat II A. Penanganan yang kurang tepat akan mempengaruhi proses penyembuhan. Penyembuhan luka bakar akan terjadi lebih cepat jika pertumbuhan sel fibroblas dan re-epitelisasi tidak terganggu. Kuersetin merupakan senyawa yang dapat membantu proses penyembuhan luka karena memiliki sifat antiinflamasi dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan aktivitas gel kuersetin terhadap peningkatan jumlah fibroblas dan re-epitelisasi dalam proses penyembuhan luka bakar derajat II A. Penelitian ini menggunakan 45 tikus putih jantan galur wistar yang dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (basis gel), kontrol positif (gel komersial) dan uji (gel kuersetin). Masing-masing kelompok diberi perlakuan yang berbeda, yaitu perlakuan 5 hari, 11 hari dan 21 hari. Kemudian induksi luka bakar dilakukan dengan logam yang dipanaskan pada suhu 100 °C selama 3 menit dan ditempelkan pada punggung tikus selama 10 detik dengan diameter luka 2 cm. Selanjutnya dilakukan pengambilan jaringan dan pembuatan preparat histologi. Perhitungan dilakukan pada 3 lapang pandang dengan pembesaran 400 x untuk fibroblas dan 100 x untuk re-epitelisasi. Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan adanya peningkatan jumlah fibroblas dan re-epitelisasi ($p < 0,05$). Kesimpulan: gel kuersetin dapat memberikan peningkatan jumlah fibroblas dan re-epitelisasi pada proses penyembuhan luka bakar.

Kata Kunci: Fibroblas, Kuersetin, Luka bakar, Re-epitelisasi

ABSTRACT

The burn is damage on the skin caused by heat exposure and often found as burns grade II A. Improper handling will affect the wound healing process. Healing of burns will occur more quickly if the growth of fibroblasts and re-epithelialization was not disturbed. Quercetin is a compound that can help the healing process because it has anti-inflammatory and antioxidant properties. This study aimed to prove the activity of quercetin gel against the increase on the number of fibroblasts and re-epithelialization in the healing process of burns grade 2 A. This study used 45 wistar strain male rats were divided into 3 groups: negative control group (base gel), positive control (commercial gel), and test (quercetin gel). Each group was given a different treatment, 5 days treatment, 11 days, and 21 days. Then burns induction conducted with metal which was heated at a temperature of 100 degrees celsius for 3 minutes and stucked it on the backs of rat for 10 seconds with 2 centimeters in diameter wound. Then removal of tissue and histology preparation are then conducted. Calculations performed on 3 field of view with magnification of 400 x for fibroblasts and 100 x for re-epithelialization. Mann-Whitney test results showed an increase in the number of fibroblasts and re-epithelialization ($p < 0,05$). The conclusion: quercetin gel can provide an increased number of fibroblasts and re-epithelialization in the burns healing process.

Keywords : Fibroblasts, Quercetin, Wound Burn, Re-epithelialization

PENDAHULUAN

Luka bakar adalah kerusakan jaringan pada kulit akibat terpajan panas tinggi, bahan kimiawi maupun arus listrik. Menurut data *World Health Organization* (WHO) tahun 2012, secara global diperkirakan 265.000 kematian akibat luka bakar. Angka kejadian luka bakar setiap tahun mengalami peningkatan. Luka bakar derajat II salah satu insiden yang sering terjadi di masyarakat (Musfirah, 2007). Khususnya luka bakar derajat II A sering terjadi di rumah tangga karena pajanan air panas, kontak langsung dengan api atau minyak panas saat memasak yang menimbulkan lepuhan, hipersensitivitas dan nyeri (Muttaqin & Sari, 2011).

Penanganan luka bakar yang kurang tepat menyebabkan infeksi, ketidakseimbangan elektrolit, masalah distress emosional dan psikologi yang berat karena cacat akibat luka bakar dan bekas luka (Rismana, 2013). Proses penyembuhan luka akan terjadi lebih cepat jika pertumbuhan sel baru dan perbaikan fungsi jaringan tidak terhambat. Salah satu sel dan jaringan yang sangat berpengaruh pada proses penyembuhan luka yakni fibroblas dan epitel. Fibroblas merupakan sel yang berperan menghasilkan serabut kolagen. Jaringan granulasi yang sehat tergantung pada fibroblas dapat menerima kadar oksigen dan nutrisi cukup yang diberikan oleh pembuluh darah. Semakin banyak jumlah fibroblas, maka semakin banyak juga kadar oksigen yang diterima sehingga membantu pada proses pembentukan jaringan. Oleh karena itu, migrasi dan proliferasi fibroblas pada area luka sangat mempengaruhi proses penyembuhan luka (Suriadi, 2004). Re-epitelisasi merupakan tahapan perbaikan luka. Penyembuhan luka sangat dipengaruhi oleh re-epitelisasi, semakin cepat proses re-epitelisasi, semakin cepat pula luka tertutup sehingga semakin cepat penyembuhan luka (Prasetyo, 2010).

Kuersetin memiliki kemampuan sebagai antioksidan, mencegah radikal bebas, anti inflamasi, mengurangi sekresi histamin dari sel mast dalam berbagai jaringan dan juga dari basofil (Lakhanpal & Deepak, 2007). Kemampuan kuersetin sebagai antioksidan dan antiinflamasi menjadi dasar bahwa kuersetin berpengaruh terhadap proses penyembuhan luka bakar (Chirumbolo, 2010). Kuersetin juga merupakan salah satu turunan senyawa flavanoid. Berdasarkan penelitian senyawa flavanoid memiliki kemampuan untuk menyembuhkan luka

bakar (Christiawan, 2010; Kalsum, 2010 & Rismana, 2013).

METODE PENELITIAN

1. Model Penelitian
Merupakan penelitian eksperimental yang bertujuan mengetahui pengaruh pemberian gel kuersetin terhadap peningkatan jumlah fibroblas dan re-epitelisasi.
2. Waktu dan Tempat Penelitian
Penelitian dilakukan di Balai Veteriner Banjarbaru, Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Teknologi Farmasi FMIPA, ULM.
3. Alat dan Bahan Penelitian
 - 3.1. Alat Penelitian
Alat-alat yang digunakan dalam penelitian antara lain: alat-alat gelas (Pyrex), *hot plate* (Stuart), termometer (Onemed), kaca objek dan gelas penutup, kaca persegi, pH meter (Millipore), viscometer Brookfield (Brookfield), alat cukur, *hot plate* (Stuart), logam berbentuk lingkaran dengan diameter 2 cm, spuit injeksi (Onemed), alat-alat bedah, *automatic tissue processor* (Leica TP1020), mikrotom (Reichert Jung 820), *paraffin Bath* (Fisher), *waterbath* (Lab-line), lemari pendingin (Sharp), *staining jar*, mikroskop cahaya (Herma®) dan mikroskop digital (Olympus®).
 - 3.2. Bahan Penelitian
Bahan yang digunakan untuk pembuatan gel adalah akuadest, gliserin, nipagin, Na-CMC, propilenglikol dan isolat kuersetin, alkohol 70%, eter, kapas, kasa, larutan normal salin 0,9%, obat komersial yang mengandung neomisin sulfat, xilol, larutan neutral buffer formalin 10%, larutan HE dan paraffin Hewan uji yang digunakan adalah tikus jantan galur wistar, umur 2-3 bulan, berat badan 200-250 gram.
4. Prosedur Penelitian
 - 4.1. Pembuatan Formula Gel Isolat Kuersetin
Sediaan gel dibuat dalam dua formula, yaitu: Tabel 1. Formula Sediaan Gel (Hamzah, 2006).

| Nama Bahan | Formula (gram) | |
|------------------|----------------|-----------------------------------|
| | Gel kuersetin | Gel yang hanya terdiri dari basis |
| Isolat kuersetin | 0,049 | - |
| Na CMC | 9 | 9 |
| Propilenglikol | 9 | 9 |
| Gliserin | 18 | 18 |
| Nipagin | 0,12 | 0,12 |

4.2 Evaluasi Gel

4.2.1. Uji pH

Pengujian menggunakan pH meter. Alat pH meter dicelupkan secara langsung ke dalam sediaan gel dan dilihat sampai angka konstan.

4.2.2 Uji Viskositas

Pengukuran menggunakan viskometer Brookfield sebanyak 3 kali (Voigt, 1994).

4.2.3. Uji Sineresis

Sediaan disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam, lalu dipindahkan ke dalam oven yang bersuhu 40°C selama 24 jam (1 siklus), dilakukan sebanyak 6 siklus dan diamati terjadinya perubahan fisik. Kondisi fisik sediaan dibandingkan selama percobaan dengan sediaan sebelumnya.

4.2.4. Pemeriksaan Organoleptik

Pengamatan dilakukan terhadap warna dan bau dari sediaan yang telah dibuat (Anief, 1997).

4.2.5. Pemeriksaan Daya Sebar

Sebanyak 1 gram sediaan gel diletakkan diatas kaca berukuran 20 x 20 cm kemudian Selanjutnya ditutupi dengan kaca yang lain, ditambahkan pemberat diatasnya hingga bobot mencapai 125 gram dan diukur diameternya setelah 1 menit (Garg *et al*, 2002).

4.2.6 Pemeriksaan Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan mengoleskan gel pada kaca transparan. Homogenitas ditunjukkan dengan tidak adanya butiran kasar.

4.2.7 Pembuatan Luka Bakar Derajat II A

Tikus yang digunakan berjumlah 45 ekor yang dibagi menjadi 3 kelompok (kelompok kontrol negatif; kontrol positif dan kelompok uji @ 15 ekor). Ketiga kelompok dibagi lagi menjadi 3 kelompok kecil yang satu kelompoknya berjumlah 5 ekor tikus. Pembagian kelompok kecil ditentukan berdasarkan lama perlakuan yaitu kelompok dengan perlakuan 5 hari, 11 hari dan 21 hari. Seluruh tikus diberikan perlakuan luka bakar derajat II A. Sebelum proses pembuatan luka bakar, tikus dicukur dan dibersihkan kemudian diberikan anastesi inhalasi menggunakan eter. (Prasetyo, 2010). Perlakuan luka bakar derajat II A menggunakan logam yang dipanaskan pada hot plate 100°C berdiameter 2 cm selama 3 menit, dengan cara menempelkan logam pada punggung tikus selama 10 detik. Setelah proses induksi selesai, punggung tikus dikompres dengan normal salin 0,9% (Kalsum, 2010).

4.2.8. Perawatan Luka Bakar Derajat II A

Bagian luka bakar diolesi sediaan gel komersial (kelompok kontrol positif), gel kuersetin (kelompok uji) dan basis gel (kelompok kontrol

negatif). Pengolesan dilakukan (pagi dan sore) dari hari ke-1 sampai hari ke-21 sebanyak 0,5 gram. Pada hari ke-1 sampai hari ke-5 dilakukan perawatan luka bakar dengan cara mengoleskan sediaan gel pada daerah luka kemudian ditutup menggunakan kasa. Pada hari ke-6 sampai hari ke-21 dilakukan pengolesan tanpa ditutup kasa (Hasyim, 2012).

4.2.9. Pembuatan Preparat Histologi

Berikut proses pembuatan preparat histologi:

1. Proses pengambilan jaringan kulit tikus dengan menggunting kulit sepanjang 1-1,5 cm dengan ketebalan \pm 3 mm.
2. Proses fiksasi dilakukan dengan memasukan jaringan kulit ke dalam larutan buffer neutral formalin 10% selama \pm 24 jam.
3. *Tissue trimming* dilakukan dengan memotong jaringan kulit sepanjang 4 mm
4. Jaringan kemudian diproses lebih lanjut dengan *automatic tissue processor* dengan urutan sebagai berikut; jaringan dimasukan dalam formalin (BNF) 10% (I) selama 1 jam, formalin (BNF) 10% (II) selama 1 jam, alkohol 85% selama 1 jam, alkohol 90% (I) selama 1 jam, alkohol 90% (II) selama 1 jam, alkohol absolut (I) selama 2 jam, alkohol absolut (II) selama 2 jam.
5. Proses *clearing*; jaringan dimasukan dalam dalam xilol (I) selama 2 jam, xilol (II) selama 2 jam dan proses infiltrasi; jaringan dimasukan dalam parafin cair (I) selama 2 jam, paraffin cair (II) selama 3 jam.
6. Proses *embedding* dilakukan dengan cara menanamkan jaringan ke dalam "*base mold*" atau cetakan yang diisi paraffin cair dan dilekatkan pada *embedding cassette* sampai dingin dan terbentuk blok jaringan yang dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4 μ m.
7. Lembaran jaringan kemudian diapungkan di atas permukaan air dalam *waterbath* dan diambil menggunakan kaca objek dengan gerakan menyendok.
8. Pewarnaan jaringan dengan Hematoksilin Eosin, dimulai dengan perendaman dengan xilol (I) selama 5 menit, xilol (II) selama 5 menit, xilol (III) selama 5 menit, alkohol absolut (I) selama 3 menit, alkohol absolut (II) selama 3 menit, alkohol 80% selama 3 menit, alkohol 70% selama 3 menit, aquades selama 1 menit, eosin selama 5 menit, alkohol 70% selama 3 menit, alkohol 80% selama 3 menit, alkohol absolut (I) selama 3 menit, alkohol absolut (II) selama 3 menit, xilol (I) selama 5

menit, xilol (II) selama 5 menit, xilol (III) selama 5 menit, xilol (IV) selama 5 menit, selanjutnya dilakukan penempelan kaca penutup dengan entelan pada jaringan yang ada pada kaca objek (Direktorat Bina kesehatan Hewan, 1999).

4.3 Pengamatan Histopatologi

Pemeriksaan jumlah fibroblas dan re-epitelisasi menggunakan metode skor. Adapun tabel skor jumlah fibroblas dan re-epitelisasi dapat dilihat pada tabel 2. Karimi *et al.*, (2013) & Roodbari *et al.*, (2012).

Tabel 2. Skor Jumlah Fibroblas dan re-epitelisasi Karimi *et al.*, (2013) & Roodbari *et al.*, (2012).

| Skor | 0 | 1 | 2 | 3 |
|---------------------------------|---------------|----------------------|-------------------|---------------------------|
| Paramete r | | | | |
| Fibroblas | Tidak ada | 5-10 sel | 10-50 sel | > 50 sel |
| Re- epitelisas i | <i>Absent</i> | <i>Startin g</i> | <i>Incomplete</i> | <i>Comple t e</i> |

Keterangan Skor Re-epitelisasi :

0= *absent* (kerusakan menyeluruh pada bagian epidermis)

1=*starting* (mulai terbentuk lapisan epidermis)

2=*incomplete* (lapisan epidermis sudah terbentuk, tetapi masih ada penebalan)

3=*complete* (lapisan epidermis sudah terbentuk secara sempurna dan tidak ditemukan penebalan pada lapisan epidermis).

4.4. Pengumpulan dan Pengolahan Data

Data jumlah fibroblas dan re-epitelisasi dianalisis menggunakan uji Kruskal Walis dan Mann Whitney.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Evaluasi Gel

Evaluasi gel meliputi pemeriksaan daya sebar dan uji stabilitas sediaan yang meliputi homogenitas, pH, organoleptis, viskositas, dan uji sineresis .

1.1 Pemeriksaan Daya Sebar

Gel yang baik membutuhkan waktu yang lebih sedikit untuk tersebar (Sukmawati, 2014) dan memiliki nilai daya sebar berkisar antara 5-7 cm (Garg *et al.*, 2002). Hasil pemeriksaan daya sebar menunjukkan bahwa sediaan gel kontrol negatif dan gel uji memiliki daya sebar pada rentang 5-7 cm. Daya sebar yang baik menyebabkan kontak antara obat dengan kulit menjadi luas, sehingga absorpsi obat ke kulit menjadi lebih cepat (Selfie, 2012).

1.2 Uji Stabilitas Sediaan

Bertujuan mengetahui kestabilan fisik dari gel yang dipengaruhi oleh perbedaan suhu (4 °C, 28±2 ° C dan 40 ° C) dan waktu penyimpanan (minggu ke-0, 2, 4, 6 dan 8) (Angela, 2012). Proses

penyimpanan dilakukan selama 2 bulan dan dilakukan pengujian setiap 2 minggu sekali. Pemeriksaan meliputi:

1.2.1 Pemeriksaan Homogenitas

Sediaan gel harus homogen sehingga bahan aktif di dalam gel terdistribusi merata saat penggunaan pada kulit (Anief, 1997). Adapun Pemeriksaan homogenitas terhadap sediaan gel pada gel kontrol negatif dan gel uji selama 2 bulan penyimpanan pada suhu 4°C, 28±2°C dan 40°C menunjukkan hasil yang homogen (tidak terdapat butiran kasar pada saat dioleskan pada kaca transparan).

1.2.2 Pemeriksaan pH

Tujuan pemeriksaan pH adalah untuk mengetahui nilai pH sediaan gel yang dihasilkan apakah sudah sesuai dengan rentang pH kulit. Jika pH sediaan topikal terlalu basa maka akan menyebabkan kulit bersisik, sedangkan jika terlalu asam maka akan menyebabkan kulit menjadi iritasi (Martin, 1983). Hasil pengamatan pH pada kontrol negatif maupun gel uji memperlihatkan pH pada rentang antara 6,8-7,0 dan dapat dikatakan pH sediaan relatif stabil dan memenuhi persyaratan pada penyimpanan karena masih berada dalam kisaran pH normal kulit yaitu 4,5-7,0 (Wasiaatmadja, 1997).

1.2.3 Pemeriksaan Organoleptis

Hasil pemeriksaan organoleptis, gel kontrol negatif terlihat transparan dan tidak berbau, gel uji berwarna kuning terang dan tidak berbau. Sediaan gel kontrol negatif dan gel uji tidak mengalami perubahan warna dan bau selama 2 bulan penyimpanan baik pada suhu 4°C, 28±2°C dan 40°C, artinya sediaan yang dibuat stabil secara fisik.

1.2.4 Pemeriksaan Viskositas

Berdasarkan penelitian, sediaan gel pada minggu ke-0 memiliki nilai viskositas sebesar 23.500 Cps, nilai viskositas ini sudah memasuki nilai viskositas sediaan gel yaitu antara 2.000-50.000 Cps (SNI, 1996), artinya sediaan yang dibuat termasuk sediaan gel. Nilai viskositas pada suhu 28±2°C dan 40°C mengalami penurunan. Pada suhu tinggi molekul-molekul air dalam sediaan gel memperoleh energi sehingga molekul-molekul air dapat bergerak bebas dan akibatnya gaya interaksi antar molekul melemah. Melemahnya interaksi antar molekul menyebabkan sediaan gel menjadi lebih cair yang ditandai dengan penurunan nilai viskositas (Martin, 1993).

1.2.5 Uji Sineresis

Hasil uji sineresis menunjukkan terjadinya

sineresis pada sediaan gel kontrol negatif dan gel uji yang ditandai terbentuknya lapisan air yang sangat tipis pada bagian atas gel. Lapisan ini terbentuk akibat gel mengkerut sehingga sebagian cairan antar sel diperas keluar. Terjadinya sineresis pada penelitian ini karena sediaan gel mengalami tekanan yang bervariasi akibat perbedaan suhu yang sangat ekstrim yaitu dari suhu 4°C ke suhu 40°C.

2. Pengamatan Jumlah Fibroblas

Fibroblas biasanya akan tampak pada sekeliling luka (Suriadi, 2004). Proliferasi dan migrasi fibroblas memegang peranan penting dalam pembentukan jaringan granulasi dan penutupan luka (Kanazawa *et al.*, 2010). Fibroblas biasanya tersebar sepanjang berkas serat kolagen dan tampak sebagai sel gelondong dengan ujung meruncing (Argamula, 2008). Fibroblas (menghubungkan sel-sel jaringan) yang berpindah ke daerah luka mulai 24 jam pertama setelah pembedahan. Pemaparan sel fibroblas sangat jarang pada jaringan lunak yang normal (tanpa perlukaan). Setelah terjadi luka, fibroblas akan aktif bergerak dari jaringan sekitar luka ke dalam daerah luka, kemudian akan berkembang (proliferasi) serta mengeluarkan beberapa substansi yang berperan dalam rekonstruksi jaringan baru (Shukla *et al.*, 1998). Perhitungan jumlah fibroblas dilakukan pada 3 lapang pandang dengan pembesaran 400 x. Hasil rerata skor fibroblas dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 3. Rerata Skor dan SD Fibroblas

| Kelompok | Perlakuan Hari Ke- | Rerata Skor Fibroblas $\bar{x} \pm SD$ |
|-----------------|--------------------|---|
| Kontrol Positif | 5 | 1,20 ± 0,18 |
| | 11 | 2,73 ± 0,28 |
| | 21 | 3,00 ± 0,00 |
| Kontrol Negatif | 5 | 0,93 ± 0,43 |
| | 11 | 2,20 ± 0,18 |
| | 21 | 2,87 ± 0,18 |
| Uji | 5 | 1,13 ± 0,30 |
| | 11 | 2,60 ± 0,19 |
| | 21 | 2,93 ± 0,15 |

Berdasarkan tabel 3, terlihat adanya peningkatan rerata skor jumlah fibroblas pada semua kelompok perlakuan. Untuk membuktikan adanya perbedaan antar kelompok dan peningkatan jumlah fibroblas, selanjutnya hasil rerata skor jumlah fibroblas dianalisis menggunakan uji non parametrik Kruskal-Walis.

Hasil uji non parametrik Kruskal-Walis antar kelompok perlakuan pada hari ke-5 dan pada hari ke-21 menunjukkan bahwa pemberian gel komersial (kontrol positif), gel kuersetin (uji), dan

gel yang hanya terdiri dari basis (kontrol negatif) memberikan kemampuan yang sama dalam meningkatkan jumlah fibroblas ($p < 0,05$), sedangkan pada hari ke-11 menunjukkan bahwa pemberian gel komersial (kontrol positif), gel kuersetin (uji), dan gel yang hanya terdiri dari basis (kontrol negatif) memberikan kemampuan yang berbeda dalam meningkatkan jumlah fibroblas ($p < 0,05$).

Hasil uji non parametrik Kruskal-Walis pada hari ke-11 perlakuan kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif dan kelompok uji menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil uji tersebut kemudian dilakukan uji lanjutan untuk melihat perbedaan bermakna dengan menggunakan uji Mann-Whitney. Berdasarkan hasil uji Mann Whitney menunjukkan bahwa pemberian gel komersial (kontrol positif) dan gel kuersetin (uji) memberikan kemampuan yang sama dalam meningkatkan jumlah fibroblas. Hal ini terjadi karena didalam gel komersial dan gel kuersetin terkandung zat aktif yang dapat merangsang proliferasi fibroblas sehingga jumlah fibroblas akan cenderung lebih banyak pada kelompok kontrol positif dan kelompok uji dibanding kelompok kontrol negatif.

Hasil uji non parametrik Kruskal-Walis antar hari perlakuan pada kelompok kontrol negatif, pada kelompok kontrol positif dan pada kelompok uji menunjukkan adanya peningkatan jumlah fibroblas ($p < 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji Mann-Whitney antar hari perlakuan untuk mengetahui peningkatan jumlah fibroblas. Berdasarkan hasil uji Mann Whitney, pada kelompok kontrol negatif, pada kelompok kontrol positif dan pada kelompok uji terjadi peningkatan jumlah fibroblas antar hari perlakuan ($p < 0,05$), kecuali hari ke-11 terhadap hari ke-21 pada kelompok kontrol positif ($p > 0,05$). Menurut Argamula (2008), setelah perlukaan, fibroblas baru bermigrasi ke daerah luka. Pertumbuhan fibroblas terjadi pada hari ke-7 hingga hari ke-14, setelah itu akan terus terjadi penyempurnaan sampai struktur kulit kembali normal. Jumlah fibroblas akan terus meningkat hingga hari ke-21. Hasil penelitian yang dilakukan sejalan dengan penelitian Hidayat (2013). Berdasarkan penelitian Hidayat (2013) tikus yang diberi gel Aloe vera terjadi peningkatan jumlah fibroblas dari hari ke-3 hingga hari ke-10. Selanjutnya, berdasarkan penelitian Roodbari *et al.*, (2012) jumlah fibroblas terus mengalami peningkatan dari hari ke-3 hingga hari ke-21. Peningkatan jumlah fibroblas karena adanya senyawa flavanoid yang memiliki aktifitas sebagai

antioksidan (Kalsum,2010). Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan adanya pengaruh yang sama dari pemberian gel kuersetin dan gel komersial terhadap jumlah fibroblas. Artinya kontrol uji memberikan efek yang sama dengan kontrol positif sehingga gel kuersetin dapat digunakan untuk pengobatan luka bakar.

3. Pengamatan Re-epitelisasi

Re-epitelisasi merupakan proses perbaikan sel-sel epitel kulit sehingga luka akan menutup. Semakin cepat terjadi re-epitelisasi akan membuat struktur epidermis kulit tikus segera mencapai keadaan normal (Putriyanda, 2006). Re-epitelisasi merupakan tahapan perbaikan luka yang meliputi mobilisasi, migrasi, mitosis dan diferensiasi sel epitel. Ketika berproliferasi, beberapa sel epitel yang telah matang meluncur keluar dari tepi luka menuju bagian permukaan luka. Akibatnya sel epitel yang bermigrasi dari segala arah akhirnya menyatu di bagian tengah luka. Apabila sel epitel telah menyatu di bagian tengah luka, maka luka akan tertutup sepenuhnya dan terbebas dari kontaminasi lingkungan luar tubuh sehingga proses pematangan jaringan di bawahnya akan berlangsung dengan lebih baik (Handayani, 2006). Penilaian re-epitelisasi dilakukan dengan metode skor. Menurut Roodbari *et al.* (2012) skor 0 berarti absent yang menggambarkan kerusakan menyeluruh pada bagian epidermis. Skor 1 berarti starting yang menggambarkan mulai terbentuk lapisan epidermis. Skor 2 berarti incomplete yang menggambarkan lapisan epidermis sudah terbentuk, tetapi masih ada penebalan. Skor 3 berarti complete yang menggambarkan lapisan epidermis sudah terbentuk secara sempurna dan tidak ditemukan penebalan pada lapisan epidermis. Penilaian skor dilakukan pada 3 lapang pandang dengan pembesaran 100 x. Adapun hasil dan grafik skor re-epitelisasi dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 4. Rerata Skor dan SD re-epitelisasi

| Kelompok | Perlakuan Hari Ke- | Rerata Skor Re-epitelisasi $\bar{x} \pm SD$ |
|-----------------|--------------------|---|
| Kontrol Positif | 5 | 0,00 \pm 0,00 |
| | 11 | 2,14 \pm 0,96 |
| | 21 | 3,00 \pm 0,00 |
| Kontrol Negatif | 5 | 0,00 \pm 0,00 |
| | 11 | 0,53 \pm 0,51 |
| | 21 | 2,87 \pm 0,18 |
| Uji | 5 | 0,00 \pm 0,00 |
| | 11 | 1,99 \pm 1,15 |
| | 21 | 3,00 \pm 0,00 |

Berdasarkan tabel 4, terlihat adanya peningkatan rerata skor re-epitelisasi pada semua kelompok perlakuan. Untuk membuktikan adanya perbedaan

antar kelompok dan peningkatan re-epitelisasi, selanjutnya hasil rerata skor re-epitelisasi dianalisis menggunakan uji non parametrik Kruskal-Walis.

Hasil uji non parametrik Kruskal-Walis antar kelompok pada hari ke-5 menunjukkan pemberian gel komersial (kontrol positif), gel kuersetin (uji), dan gel basis (kontrol negatif) memberikan kemampuan yang sama dalam meningkatkan re-epitelisasi ($p > 0,05$). Perlakuan hari ke-11 memperlihatkan hasil yang tidak berbeda bermakna antara ketiga kelompok ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan re-epitelisasi tidak harus terjadi pada titik waktu yang telah ditentukan. Kecepatan re-epitelisasi tergantung kandungan zat aktif didalam sediaan (Rismana,2013). Sehingga ketika mengambil hari ke-11 untuk pengamatan histopatologi, belum tentu dapat memberikan gambaran yang signifikan terhadap proses re-epitelisasi, karena proses re-epitelisasi bisa terdapat perbedaan yang bermakna antara ketiga kelompok sebelum atau sesudah hari ke-11.

Perlakuan hari ke-21 juga menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok ($p > 0,05$). Hasil ini sesuai dengan teori yang menyatakan luka bakar derajat II A sembuh sekitar hari ke-10 hingga 14 pasca perlakuan (Moenadajat, 2003). Hari ke-21 sudah memasuki fase maturasi berupa remodelling kolagen, kontraksi luka dan pematangan parut (Rahmawati, 2009), sehingga hasil perlakuan tidak memiliki perbedaan antar kelompok perlakuan.

Berdasarkan hasil uji non parametrik Kruskal-Walis antar hari perlakuan pada kelompok kontrol positif, pada kelompok kontrol negatif dan pada kelompok uji menunjukkan adanya perbedaan bermakna dalam peningkatan re-epitelisasi ($p < 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji Mann-Whitney dan diperoleh hasil pada ketiga kelompok terjadi peningkatan re-epitelisasi antar hari perlakuan ($p < 0,05$). Proses re-epitelisasi pada penelitian ini mengalami peningkatan seiring bertambahnya waktu yang menunjukkan bahwa lama perlakuan berpengaruh pada re-epitelisasi. (Karimi *et al*, 2013).

KESIMPULAN

1. Pemberian gel kuersetin meningkatkan re-epitelisasi dalam proses penyembuhan luka bakar derajat II A pada tikus jantan galur wistar.
2. Pemberian gel kuersetin meningkatkan jumlah fibroblas dalam proses penyembuhan luka bakar derajat II A pada tikus jantan galur wistar.

DAFTAR PUSTAKA

- Anief, M. (1997). *Formulasi Obat Topikal*. Yogyakarta: Gajah Mada University.
- Argamula, G. (2008). *Aktivitas Sediaan Salep Ekstrak Batang Pohon Pisang Ambon (Musa Paradisiaca Var Sapientum) Dalam Proses Persembuhan Luka Pada Mencit (Mus Musculus Albinus)*. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Asmaningsih, E., Yulian, W. U., Rahmatuz, Z. Pengaruh Pemberian Topikal Ekstrak Etanol Kedelai (*Glycine max*) Terhadap Pembentukan Jaringan Epitel Pada Perawatan Luka Bakar Derajat II A Pada Tikus Wistar.
http://old.fk.ub.ac.id/artikel/id/filedownload/keperawatan/MAJALAH_RAHMATUZ%20ZULFIA_0910721010.pdf (diakses tanggal 3 November 2013).
- Chirumbolo, S. (2010). *The Role of Kuersetin, Flavonols and Flavones in Modulating Inflammatory Cell Function*. Italy: Bentham Science Publishers Ltd. Department of Pathology and Diagnostics, University of Veron.
- Christiawan, A. & P. David. (2010). *Aktivitas Antimikroba Daun Binahong Terhadap Pseudomonas Aeruginosa Dan Staphylococcus Aureus Yang Sering Menjadi Penyulit Pada Penyembuhan Luka Bakar*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Direktorat Bina Kesehatan Hewan. (1999). *Manual Standar Metoda Diagnosa Laboratorium Kesehatan Hewan*. Jakarta: Direktorat Bina Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan dan Departemen Pertanian.
- Garg, A., D. Anggarwal, S. Garg & A.K. Singla. (2002). *Spreading of Semisolid Formulation: An Update*. Pharmaceutical Technology.
- Hamzah, M. (2006). Anti-Inflammatory Activity of Achillea and Ruscus Topical Gel on Carrageenan-Induced Paw Edema in Rats. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*. **4**: 287-280.
- Handayani, I. (2006). *Aktivitas Sediaan Gel dari Ekstrak Lidah Buaya (Aloe Barbadensis Miller) untuk Proses Persembuhan Luka pada Mencit (Mus musculus)*. Skripsi Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian, Bogor.
- Hasyim, N., K.L.Pare, I. Junaid & A. Kurniati. (2012). Formulasi Dan Uji Efektivitas Gel Luka Bakar Ekstrak Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe Pinnata L.*) Pada Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*). Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*. **16**: 89 – 94.
- Hidayat, T.S.N. (2013). Peran Topikal Ekstrak Gel Aloe Vera Pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat Dalam Pada Tikus. Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo, Surabaya.
- Kalsum, U. (2010). *Perbedaan Perawatan Luka Bakar Derajat II Menggunakan Ekstrak Kedelai (Glycine Max) Dan Normal Salin Terhadap Jumlah Sel Fibroblas Pada Tikus (Rattus Norvegicus) Galur Wistar*.
<http://old.fk.ub.ac.id/artikel/id/filedownload/keperawatan/Majalah%20lina%20%280910720050%29.pdf> (diakses tanggal 2 November 2013).
- Kanazawa, S., T. Fujiwara, S. Matsuzaki, K. Shingaki, M. Taniguchi, S. Miyata, M. Tohyama, Y. Sakai, K. Yano, T. Kubo. (2010). bFGF Regulates PI3-Kinase-Rac1-JNK Pathway and Promotes Fibroblast Migration in Wound Healing. *PLoS One*. **5**: 8.
- Karimi, M., P. Parsaei, S.Y. Asadi, S. Ezzati, R.K. Boroujeni, A. Zamiri & M. Rafieian-Kopaei. (2013). Effects of Camellia sinensis Ethanol Extract on Histometric and Histopathological Healing Process Of Burn Wound In Rat. *Middle-East Journal Of Scientific Research*. **13**: 14-19.
- Lakhanpal, P.M.D. & Deepak.K.R. (2007). *Ministry of Health & Quality of Life. Clinical Knowledge. Internet Journal of Medical Update*. **2** : 22-37.
- Martin, A., Swarbrick, J., Cammarata, A. (1993) *.Physical Pharmacy, Physical Chemical Principles in The Pharmaceutical Science*. Edisi ke-2. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Muttaqin, A. & Sari, K. (2011). *Asuhan Keperawatan Gangguan Sistem Integumen*. Salemba Medika, Jakarta.
- Prasetyo, B.F., I. Wientarsih, B.P. Prioeryanto. (2010). Aktivitas Sediaan Gel Ekstrak Batang Pohon Pisang Ambon Dalam Proses Penyembuhan Luka Pada Mencit. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. *Jurnal Veteriner*. **11**: 70-73.

- Putriyanda, N. (2006). *Kajian Patologi Aktivitas Getah Batang Pohon Pisang Tanduk (Musa parasidiaca forma typica) Dalam Proses Persembuhan Luka pada Tikus (Mus musculus albinus)*. Skripsi Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rahmawati. (2009). Pengaruh stimulasi elektrik terhadap pengurangan luas luka pada penyembuhan luka (depth wound). *Jurnal Pendidikan Mutiara Ilmu*. **4**: 102-107.
- Rismana, E., Idah, R., Prasetyawan, Y., Olivia, B., & Erna, Y. (2013). Efektivitas Khasiat Pengobatan Luka Bakar Sediaan Gel Mengandung Fraksi Ekstrak Pegagan Berdasarkan Analisis Hidroksiprolin Dan Histopatologi Pada Kulit Kelinci. *Penelitian Kesehatan*. **41**: 45-60.
- Roodbari, N., A. Sotoudeh, A. Jahanshahi & M. A. Takhtfooladi. (2012). Healing Effect Of *Adiantum capillus Veneris* On Surgical Wound In Rat. *Research Opinions In Animal & Veterinary Sciences*. **12**: 591-595.
- Selfie, P.J., Ulaen, Y.B., Ririn, A. S. (2012). *Pembuatan Salep Anti Jerawat Dari Ekstrak Rimpang Temulawak (Curcuma Xanthorrhiza Roxb.)*. Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes, Manado
- Shukla, A., A.M.Rasik, G.K.Jain, R. Shankar. (1998). In Vitro and In Vivo Wound Healing Activity of Asiaticoside Isolated from *Cantella Asiatica*. *Journal of Ethnopharmacology*. **65**: 1-11.
- SNI. (1996). SNI 14399-1996 Sediaan Tabir Surya. Dewan standarisasi Nasional. Jakarta.
- Sukmawati, N.M.A., Arisanti, C. I. S., Wijayanti, N.P.A.D. (2014). *Pengaruh Variasi Konsentrasi PVA, HPMC, dan Gliserin Terhadap Sifat Fisika Masker Wajah Gel Peel Off Ekstrak Etanol 96% Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana, L.)*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan alam, Universitas Udayana, Bali.
- Suriadi. (2004). *Perawatan luka*. Jakarta: CV Sagung Seto.
- Voigt, R. (1994). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- World Health Organization (WHO). (2016). *Burns*. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs365/en/>