

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT
DELIMA SECARA ORAL TERHADAP KADAR IL-6,
VEGF DAN JUMLAH KOLAGEN**

**(Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur *Sprague Dawley* yang
diberi luka bakar derajat II)**

Tesis



Magister Ilmu Biomedik

Risyaningsi Sangkota
MBK.19.14.01.0161

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG 2022**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT DELIMA
SECARA ORAL TERHADAP KADAR IL-6, VEGF
DAN JUMLAH KOLAGEN**

**(Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur *Sprague Dawley* yang diberi
luka bakar derajat II)**

disusun oleh :

Risyaningsi Sangkota
MBK.19.14.01.0161

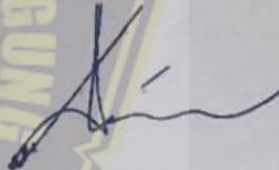
yang akan dipertahankan di depan Tim Penguji
pada 2 Juni 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima,

Menyetujui,
Pembimbing

Pembimbing I,

Pembimbing II,


Dr. dr. Chodidjah, M.Kes
NIK. 210186023


Dr. Dra. Atina Husaana, M.Si.Apt
NIK. 210198047

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang


Assoc. Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si.Med
NIK. 210199050

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum / tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.



Semarang, Juli 2022

Risyaningsi Sangkota

RIWAYAT HIDUP

1. Identitas Diri

Nama : Risyaningsi Sangkota
 Tempat / tanggal lahir : Luwuk, 25 September 1981
 Agama : Islam
 Jenis Kelamin : Perempuan

2. Riwayat Pendidikan Formal

1. TK : Lulus tahun 1987
 2. SDN Pembina Luwuk : Lulus tahun 1993
 3. SMP N 2 Luwuk : Lulus tahun 1996
 4. SMAN 1 Luwuk : Lulus tahun 1999
 5. S1 Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang : Lulus tahun 2005
 6. Magister Ilmu Biomedik FK UNISSULA : 2019- sekarang

3. Riwayat Keluarga

Nama Orang Tua
 Ibu : Ruiyah TS Bullah
 Ayah : Idris Sangkota
 Nama Saudara Kandung
 Adik : Bambang Iskandar
 Nama Suami : Najatullah
 Nama Anak : Aisha Nuril Maulida

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan yang Maha Esa, atas segala karunia dan ridho-NYA, sehingga tesis dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Delima Secara Oral terhadap Kadar IL-6, VEGF dan Jumlah Kolagen” ini dapat diselesaikan.

Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Magister Biomedik di program studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan menghaturkan terima kasih yang sebesar-besarnya, kepada :

1. Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Drs. H. Bedjo Santoso, M.T.,Ph.D
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi Sp.KF. SH.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Assoc. Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si.Med.
4. Ibu Dr. dr. Chodidjah, M.Kes atas bimbingan, arahan dan waktu yang telah diluangkan kepada penulis untuk berdiskusi selama menjadi dosen pembimbing pertama.
5. Ibu Dr. Dra. Atina Husaana, M.Si.Apt selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.
6. Bapak Assoc. Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si.Med selaku penguji I yang telah memberikan masukan dan saran dalam penulisan dan penyelesaian tesis.
7. Ibu Dr.Ir.Hj.Titiek Sumarawati M.Kes selaku penguji II yang telah memberikan banyak saran dan motivasi dalam penulisan dan penyelesaian tesis.

8. Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, SH, Sp.KF selaku penguji III yang telah memberikan masukan dan saran dalam penulisan dan penyelesaian tesis.
9. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik, yang telah memberikan arahan dan bimbingan untuk mendalami ilmu Biomedik.
10. Suami saya dr. Najatullah SpBP-RE (K), MARS , anak saya Aisha Nuril Maulida, Kedua Orangtua saya tercinta yang selalu membuat saya semangat dan seluruh keluarga saya yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu atas segala dukungan dan doanya.
11. Semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Dengan keterbatasan pengalaman, ilmu maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan dan pengembangan lanjut agar benar benar bermanfaat. Oleh sebab itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar tesis ini lebih sempurna serta sebagai masukan bagi penulis untuk penelitian dan penulisan karya ilmiah di masa yang akan datang.

Akhir kata, penulis berharap tesis ini memberikan manfaat bagi kita semua terutama untuk pengembangan ilmu pengetahuan yang ramah lingkungan.

Wassalammua'laikum warohmatullahi wabarakatuh

Semarang, Juli 2022

Risyaningsi Sangkota

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	<i>i</i>
HALAMAN PERNYATAAN.....	<i>ii</i>
HALAMAN PERSETUJUAN	<i>iii</i>
RIWAYAT HIDUP	<i>iv</i>
KATA PENGANTAR.....	<i>v</i>
DAFTAR ISI.....	<i>vii</i>
DAFTAR GAMBAR.....	<i>ix</i>
DAFTAR TABEL	<i>x</i>
DAFTAR LAMPIRAN	<i>xi</i>
DAFTAR SINGKATAN.....	<i>xii</i>
ABSTRAK	<i>xiv</i>
ABSTRACT	<i>xv</i>
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Umum	4
1.4 Tujuan Khusus	4
1.5 Manfaat Penelitian	5
1.6 Originalitas Penelitian.....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Interleukin-6 (IL-6)	7
2.2 Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)	10
2.3 Kolagen	16
2.4 Luka Bakar Derajat II.....	18
2.5 Delima (<i>Punica Granatum L.</i>)	27
2.6 Pengaruh Pemberian Esktrak Kulit Delima Terhadap IL-6, VEGF dan Kolagen pada Luka Bakar Derajat II.....	34

BAB III. KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori.....	37
3.2 Kerangka Konsep	40
3.3 Hipotesis.....	40

BAB IV. METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	41
4.2 Populasi	42
4.3 Variabel dan Definisi Operasional	43
4.4 Instrumen dan Bahan Penelitian.....	45
4.5 Cara Penelitian	46
4.6 Tempat dan Waktu Penelitian	51
4.7 Analisis Data	52

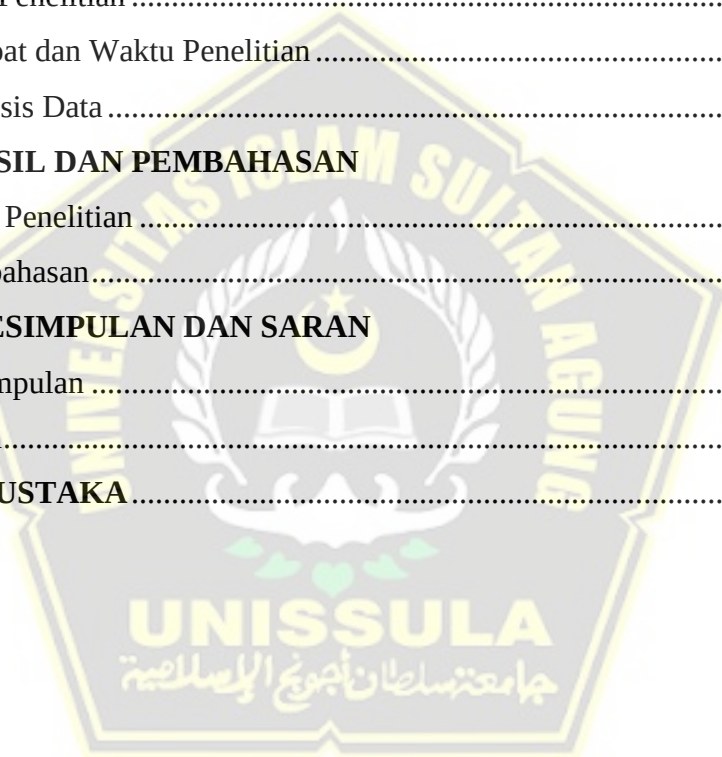
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian	53
5.2 Pembahasan.....	62

BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan	67
6.2 Saran.....	67

DAFTAR PUSTAKA	68
-----------------------------	----



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur Protein Faktor Angiogenesis, VEGF	13
2.2 Gambar skematik dan gambar klinis luka bakar derajat II	21
2.3 Gambar skematik dan gambar klinis luka bakar derajat II	21
2.4 Fase penyembuhan luka	22
2.5 Gambar A. Bunga, daun dan buah delima; B. Kulit delima bubuk; C. Pulir buah delima; D. Kulit delima kering.....	31
3.1 Skema Kerangka Teori.....	39
3.2 Skema Kerangka Konsep	40
4.1 Skema Rancangan Penelitian	41
5.1 Grafik Rerata Kadar IL-6.....	56
5.2 Grafik Rerata VEGF	57
5.3 Perbedaan VEGF kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada jaringan dermis kulit <i>Sprague Dawley</i> jantan dengan pengecatan IHC, menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400x. Tanda (panah) positif VEGF warna coklat.....	58
5.4 Grafik Rerata Jumlah Kolagen.....	60
5.5 Perbedaan ekspresi kolagen kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada jaringan dermis kulit <i>Sprague Dawley</i> jantan dengan pengecatan <i>Sirius Red</i> , menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400x. Tanda panah ekspresi positif kolagen warna merah terang	61

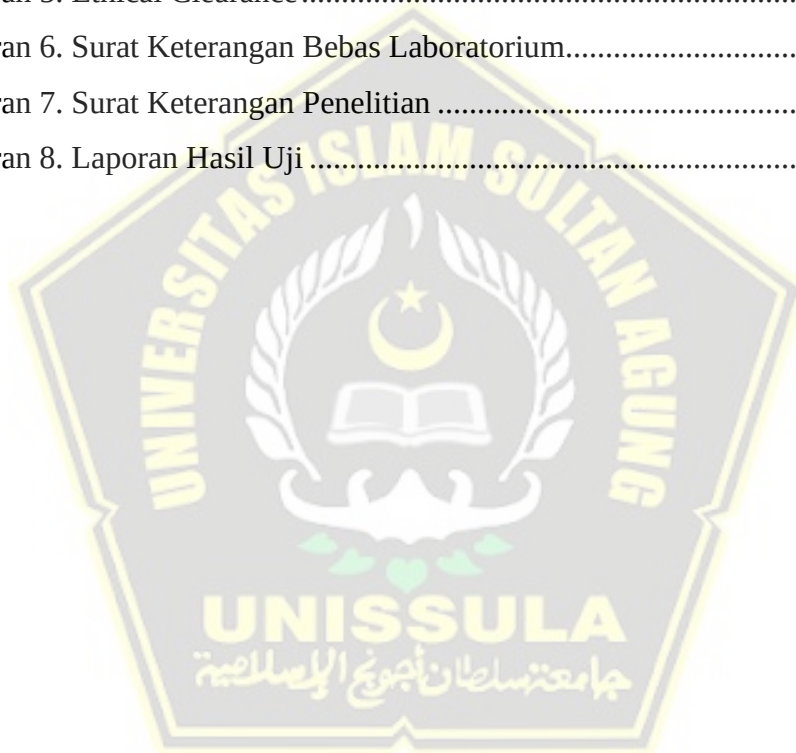
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1.1 Originalitas Penelitian.....	5
5.1 Hasil Analisis Rerata Kadar IL-6, VEGF dan Jumlah Kolagen.....	53
5.2 Perbedaan Kadar IL-6 Antar 2 Kelompok	55
5.3 Perbedaan Kadar VEGF Antar 2 Kelompok.....	57
5.4 Perbedaan Jumlah Kolagen Antar 2 Kelompok	59



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Tabel Konversi Dosis Hewan Dengan Manusia	72
Lampiran 2. Berat Badan Tikus Jantan Galur <i>Sprague Dawley</i>	73
Lampiran 3. Dokumentasi Kegiatan Penelitian	74
Lampiran 4. Olah Data SPSS	76
Lampiran 5. Ethical Clearance	82
Lampiran 6. Surat Keterangan Bebas Laboratorium.....	83
Lampiran 7. Surat Keterangan Penelitian	84
Lampiran 8. Laporan Hasil Uji	85



DAFTAR SINGKATAN

Ang	: <i>Angiopoietins</i>
ATP	: <i>Adenosin Tri Phospat</i>
Ca	: <i>Kalsium</i>
CFU	: <i>Colony Forming Unit In Culture Medium</i>
CMC	: <i>Carboxy Methyl Cellulose</i>
CO ₂	: <i>Karbon dioksida</i>
CSF	: <i>Cerebro Spinal Fluid</i>
DAMPs	: <i>Damage Associated Molecular Patterns</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
ER	: <i>Reticulum Endoplasma</i>
Fe	: <i>Zat Besi Fosfor</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
HSF	: <i>Hepatocyte Stimulating Factor</i>
IFN-β2	: <i>Interferon-Beta2</i>
IL-10	: <i>Interleukin 10</i>
IL-6	: <i>Interleukin 6</i>
IL-β	: <i>Interleukin 1β</i>
Na	: <i>Sodium</i>
NO-	: <i>Nitric Oxide</i>
NOS	: <i>Nitric Oxide Synthase</i>
O ₂	: <i>Oksigen</i>
OH-	: <i>Hidroksil superoksida (O₂•-),</i>
OOH-	: <i>Peroxyl Radikal</i>
PCr	: <i>Phosphocreatine</i>
pCRP	: <i>Pentameric CRP</i>
PGF	: <i>Plasmacytoma Growth Factor</i>

PIGF	: <i>Placental Growth Factor</i>
RNS	: <i>Reactive Nitrogen Spesies</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SFLT-1	: <i>Soluble Fins-Like Tyrosinekinase-1</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor – beta</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor – alpha</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VEGFR	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor</i>
VPF	: <i>Vascular Permeability Factor</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>



PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT DELIMA SECARA ORAL TERHADAP KADAR IL-6, VEGF DAN JUMLAH KOLAGEN

(Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur *Sprague Dawley* yang diberi luka bakar derajat II)

Risyaningsi Sangkota¹, Chodidjah², Atina Husaana³
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang

ABSTRAK

Latar Belakang : Penyembuhan luka bakar merupakan proses yang kompleks. Perawatan dan rehabilitasi luka bakar memerlukan ketekunan, biaya mahal, tenaga terlatih dan terampil. Oleh karena itu, diperlukan terobosan untuk mengatasi masalah ini dengan cara yang efektif, aman, dan terjangkau. Salah satu alternatif terobosannya adalah dengan menggunakan bahan-bahan alami seperti kulit delima. **Tujuan** : Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit delima secara oral terhadap kadar IL-6, VEGF dan jumlah kolagen pada tikus jantan galur *sprague dawley* yang diberi luka bakar derajat II. **Metode** : Penelitian menggunakan eksperimen dengan pendekatan *post test only control group design*. Subyek penelitian berjumlah 24 ekor tikus jantan galur *sprague dawley* yang dibagi secara acak menjadi 4 kelompok. Kelompok K, P1, P2, dan P3. Kelompok P1, P2, dan P3 diberi luka bakar derajat II dan pemberian ekstrak kulit delima dengan dosis 54, 108, 162 mg/200 gr BB. Pada hari ke 3 dilakukan pemeriksaan IL-6 di PSPG UGM dan hari ke 7 dilakukan terminasi dan dilakukan pemeriksaan VEGF dan jumlah kolagen di SSCR FK UNISSULA pada Januari 2022. **Hasil** : Uji *One Way Anova* menunjukkan kadar IL-6, VEGF dan jumlah kolagen pada antar kelompok terdapat perbedaan signifikan dengan masing-masing nilai $p=0.000$, $p=0.029$ dan $p=0.000$ ($p<0,05$). **Kesimpulan**: Pemberian ekstrak kulit delima dengan dosis 54, 108, 162 mg/200 gr BB dapat menurunkan kadar IL-6, meningkatkan VEGF, dan meningkatkan jumlah kolagen pada tikus jantan galur *sprague dawley* yang diberi luka bakar derajat II.

Kata Kunci : kulit delima, Interleukin-6, VEGF, jumlah kolagen

EFFECT OF POMEGRANATE SKIN EXTRACT IN ORAL ON LEVELS OF IL-6, VEGF AND COLLAGEN COUNT

(Studi Eksperimental pada Male Rat Sprague *Dawley* who was given grade II burns)

Risyaningsi Sangkota¹, Chodidjah², Atina Husaana³
Faculty of Medicine Sultan Agung Islamic University Semarang

ABSTRACT

Background: Burns healing is a complex process. Treatment and rehabilitation of burns requires perseverance, expensive costs, trained and skilled personnel. Therefore, a breakthrough is necessary to address this problem in an effective, safe, and affordable way. One of the breakthrough alternatives is to use natural ingredients such as pomegranate peel. **Purpose:** To find out the effect of oral pomegranate skin extract on IL-6, VEGF and collagen levels in male mice of *sprague dawley* strains that were given grade II burns. **Method:** Research uses experimental with *posttest only control group design* approach. The study subjects numbered 24 male rats of *Sprague Dawley* strain which was randomly divided into 4 groups. Groups K, P1, P2, and P3. The P1, P2, and P3 groups were given grade II burns and pomegranate skin extracts at doses of 54, 108, 162 mg/200 gram of body weight. On the 3rd day, IL-6 examination was conducted at PSPG UGM and the 7th day was terminated and VEGF examination and collagen amount was carried out at SSCR FK UNISSULA in January 2022. **Results:** The *One Way Anova* test showed levels of IL-6, VEGF and the amount of collagen in between groups there were significant differences with each $p = 0$ value. 000, $p=0.029$ and $p=0.000$ ($p<0.05$). **Conclusion:** Administering pomegranate skin extract at doses of 54, 108, 162 gram of body weight can lower IL-6 levels, increase VEGF, and increase the amount of collagen in male mice of *Sprague dawley* strains given grade II burns.

Keywords : *pomegranate skin, Interleukin-6, VEGF, amount of collagen*

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka bakar merupakan suatu kerusakan jaringan yang disebabkan oleh paparan atau kontak dengan sumber panas seperti api, air panas, minyak panas, listrik, bahan kimia dan radiasi.¹ Luka bakar menyebabkan kerusakan jaringan kulit yang memicu reaksi inflamasi dengan melepaskan mediator proinflamasi khususnya *Interleukin-6* (IL-6). Penanganan dalam penyembuhan luka bakar antara lain mencegah infeksi dan memberi kesempatan sisa-sisa sel epitel untuk berpoliferasi dan menutup permukaan luka. Fase proliferasi dari penyembuhan luka memiliki ciri khas yang ditandai dengan angiogenesis dimulai dari respon *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) hingga pembentukan kolagen.² Perawatan dan rehabilitasi luka bakar memerlukan ketekunan, biaya mahal, tenaga terlatih dan terampil. Penggunaan antibiotik sebagai obat luka bakar dapat menimbulkan resistensi obat, sehingga diperlukan alternatif lain pemanfaatan tanaman obat seperti kulit Delima. Kulit Delima mempunyai kandungan polifenol, kandungan anti-inflamasi, dan aktivitas anti-bakteri yang tinggi, namun belum diketahui efeknya terhadap kadar IL-6, VEGF, dan kolagen.

World Health Organization (WHO) melaporkan bahwa luka bakar berada di peringkat 9 dari kasus kematian di dunia, untuk orang berusia 5–14 tahun dengan perkiraan 41.575 kematian, 15 untuk orang berusia 15– 29 tahun

dengan perkiraan 49.067 kematian, dan ke-15 untuk orang-orang berusia 0–4 tahun dengan perkiraan 62.655 kematian. Besar kematian luka bakar diperkirakan 5% dari semua cedera paling umum peringkat 7 di dunia.³ Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2013, prevalensi luka bakar di Indonesia sebesar 0,7%. Prevalensi tertinggi terjadi pada usia 1-4 tahun. Kementerian Kesehatan pada tahun 2015 mencatat adanya trauma luka bakar berada di urutan ke-6 untuk cedera yang tidak disengaja dengan total 7,7%.

Delima memang sudah dikenal luas oleh masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional karena dipercaya mengandung zat-zat tertentu. Beberapa penelitian telah mengungkapkan tingginya kandungan polifenol, aktivitas antioksidan, kandungan anti-inflamasi, dan aktivitas anti-bakteri yang tinggi pada delima.⁴ Penelitian yang dilakukan oleh Krisna menyebutkan bahwa zat aktif *punicalagin*, *ellagic acid*, *gallic acid*, urolithin A/B, granatin A/B dan delphinidin dari bunga, biji, kulit, mesocarp (kulit dalam) dan keseluruhan buah delima terbukti mampu menurunkan kadar IL-6 pada penyakit dengan patofisiologi inflamasi.⁵ Penelitian lain yang dilakukan oleh Soejanto menyatakan bahwa krim ekstrak buah delima merah dapat menghambat penurunan jumlah kolagen dermis kulit mencit yang dipapar sinar ultraviolet B.⁶ Penelitian yang dilakukan Puspitasari juga menunjukkan bahwa terdapat pengaruh ekstrak etanol biji delima merah konsentrasi 40% terhadap waktu penyembuhan luka pada tikus strain wistar.⁷

Kerusakan jaringan kulit yang disebabkan oleh luka bakar menghasilkan sejumlah besar sel apoptosis dan nekrotik. Jaringan nekrotik dan jaringan sekitarnya yang ikut mengalami kerusakan, menjadi pemicu bagi tubuh untuk melepaskan berbagai *Damage Associated Molecular Patterns* (DAMPs), seperti DNA terekspos, *Reactive Oxygen Species* (ROS), ATP, dan N-formil peptida yang menginduksi produksi sitokin pro-inflamasi seperti IL-6 dalam mempertahankan respon inflamasi.⁵ Setelah luka bakar terjadi, produksi kolagen secara bertahap meningkat, neutrofil bermigrasi ke jaringan yang rusak untuk memfagosit mikroba dan substansi asing, dilanjutkan pembentukan ulang jaringan untuk perbaikan dan regenerasi jaringan.⁸ Kulit Delima juga mengandung polifenol yang berperan dalam membantu proses penyembuhan luka (angiogenesis) dengan memperbaiki sel dan jaringan epidermal dan dermal melalui *vaskular endothelial growth factor* (VEGF). Namun secara spesifik belum ada penelitian yang mengungkapkan bagaimana keefektifan delima dalam mengobati luka bakar, terutama dalam hal mempengaruhi kadar IL-6, VEGF, dan jumlah kolagen, sehingga hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sebuah alternatif baru yang mendukung pengobatan terhadap luka bakar secara oral, dimana delima memiliki fungsi sebagai bahan obat tradisional yang terstandar, teruji, terjangkau, serta memiliki efek samping minimum. Penelitian ini akan melihat pengaruh pemberian ekstrak kulit delima secara oral terhadap kadar *interleukin-6* (IL-6), VEGF dan kolagen pada tikus jantan galur *Sprague Dawley* yang diberi luka bakar derajat II.

1.2 Perumusan Masalah

Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak kulit delima secara oral terhadap kadar *interleukin-6* (IL-6), VEGF dan jumlah kolagen pada tikus jantan galur *Sprague Dawley* yang diberi luka bakar derajat II ?

1.3 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit delima secara oral terhadap kadar *interleukin-6* (IL-6), VEGF dan jumlah kolagen pada tikus jantan galur *Sprague Dawley* yang diberi luka bakar derajat II.

1.4 Tujuan Khusus

- 1.4.1 Mengetahui dan menganalisis pengaruh pemberian ekstrak kulit delima secara oral dengan dosis 54 mg, 108 mg, 162 mg /200gr BB terhadap kadar *interleukin-6* (IL-6) pada tikus jantan galur *Sprague Dawley* yang diberi luka bakar derajat II.
- 1.4.2 Mengetahui dan menganalisis pengaruh pemberian ekstrak kulit delima secara oral dengan dosis 54 mg, 108 mg, 162 mg /200gr BB terhadap VEGF pada tikus jantan galur *Sprague Dawley* yang diberi luka bakar derajat II.
- 1.4.3 Mengetahui dan menganalisis pengaruh pemberian ekstrak kulit delima secara oral dengan dosis 54 mg, 108 mg, 162 mg /200gr BB terhadap jumlah kolagen pada tikus jantan galur *Sprague Dawley* yang diberi luka bakar derajat II.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat Teoritis

Dapat menjawab pengaruh pemberian ekstrak kulit delima secara oral terhadap kadar *interleukin-6* (IL-6), VEGF dan jumlah kolagen pada tikus jantan galur *Sprague Dawley* yang diberi luka bakar derajat II sebagai pengembangan ilmu.

1.5.2 Manfaat Praktis

Mengembangkan pemanfaatan pemberian ekstrak kulit delima secara oral sebagai salah satu obat alternatif dalam penyembuhan luka bakar.

1.6 Originalitas Penelitian

Originalitas penelitian menyajikan perbedaan dan persamaan bidang kajian yang diteliti antara peneliti dengan peneliti-peneliti sebelumnya, untuk menghindari adanya pengulangan kajian terhadap hal-hal yang sama dapat dilihat dalam tabel 1.1.

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

Peneliti	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian
Krisna, Ariya Indra 2021 ⁵	Pengaruh Polifenol Delima (<i>Punicagranatum</i> L.) Terhadap Kadar Interleukin-6 Pada Penyakit Yang Melibatkan Patofisiologi Inflamasi	<i>Systematic literature review</i>	Zat aktif punicalagin, ellagic acid, gallic acid, urolithin A/B, granatin A/B dan delphinidin dari bunga, biji, kulit, mesocarp (kulit dalam) dan keseluruhan buah delima terbukti mampu menurunkan kadar IL-6 pada penyakit dengan patofisiologi inflamasi yang meliputi penyakit seperti inflammatory bowel disease dan alzheimer's, kanker, penyakit metabolik dan degeneratif antara lain rheumatoid arthritis, osteoarthritis, osteoporosis dan

Lukiswanto, <i>et al</i> 2019	Evaluation of wound healing potential of pomegranate (Punica granatum L.) whole fruit extract on skin burn wound in rats (Rattus norvegicus)	Penelitian menggunakan - <i>posttest only control group design</i>	atherosklerosis. Sediaan krim 10% SPE yang distandarisasi dengan 40% asam ellagic mempercepat penyembuhan luka bakar derajat dua pada tikus. Krim 10% SPE mempercepat pembentukan kolagen, mempercepat reepitelisasi, serta membuat proses angiogenesis dan inflamasi berjalan lebih baik (tingkat rendah) dibandingkan perlakuan lain.
Ke Ma, <i>et al</i> 2015	Evaluation of Wound Healing Effect of Punica granatum L Peel Extract on Deep Second-Degree Burns in Rats	Penelitian menggunakan - <i>posttest only control group design</i>	Sediaan PHE secara topikal merupakan obat yang efektif dan menjanjikan pada penyembuhan luka dalam berbagai fase ditinjau dari sel inflamasi, fibroblas serta kolagen, hasil MIC menunjukan bahwa PHE efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri

sehingga perbedaan dari penelitian-penelitian pada tabel 1.1 adalah belum ada yang meneliti tentang pengaruh pemberian ekstrak kulit delima secara oral terhadap kadar *interleukin-6* (IL-6), VEGF dan jumlah kolagen tipe pada tikus jantan galur *Sprague Dawley* yang diberi luka bakar derajat II.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Interleukin – 6 (IL-6)*

2.1.1 Pengertian IL-6

Interleukin-6 dikenal sebagai *interferon-beta2 (IFN-β2)* dan *plasmacytoma growth factor (PGF)*. *Interleukin-6* merangsang hepatosit untuk memproduksi *acute phase protein (APP)* dan bersama *cerebro spinal fluid (CSF)* merangsang progenitor di sumsum tulang untuk memproduksi neutrophil. *Interleukin-6* merangsang pertumbuhan dan diferensiasi sel B menjadi sel mast yang memproduksi antibodi dalam imunitas spesifik dengan mensintesis protein fase akut dalam hati, menginduksi proliferasi sel pembentuk antibodi. *Interleukin-6* merupakan sitokin proinflamasi pleiotropik yang berperan memodulasi proses proliferasi, diferensiasi dan maturasi progenitor hematopoetik serta berperan dalam aktifitas metabolik selular.⁹

Interleukin-6 disekresikan oleh sel T, makrofag, osteoblast, pembuluh darah, sel-sel otot halus dalam tunika media. Sifat umum pada IL-6 antara lain pleitropi yaitu mempunyai lebih dari satu efek terhadap beberapa jenis sel), fungsi autokrin (autoregulasi), dan fungsi parakrin yaitu dapat meregulasi sel yang letaknya tidak jauh. Efek dari IL-6 yang tidak langsung berupa menginduksi ekspresi reseptor untuk sitokin lain atau bekerja sama dengan sitokin lain dalam merangsang sel (sinergisme), dan mencegah ekspresi reseptor atau produksi sitokin (antagonisme).⁹

2.1.2. Kategori Sitokin

Sitokin dibagi menjadi tiga keluarga besar yaitu :¹⁰

1. Sitokin proinflamasi (*interleukin-1 β* , *TNF- α* , *interleukin-6*)
2. Sitokin anti inflamasi (*interleukin-4*, *interleukin-10*, *interleukin-13*)
3. Sitokin hematopoietik (*interleukin-3*, *interleukin-5*)

2.1.3 Peran IL-6 terhadap Penyembuhan Luka

Interleukin-6 memiliki fungsi sebagai sitokin proinflamasi dan anti inflamasi yang disekresikan sel T dan makrofag. Peran proinflamasi *interleukin-6* terjadi pada proses kronis, yang banyak tampak pada penyakit-penyakit autoimun, contohnya psoriasis, *rheumatoid arthritis*, lupus, kusta dan yang lainnya. Peningkatan kadar *interleukin-6* terjadi pada kondisi peradangan kronis, infeksi akut bakterial maupun viral, kondisi bakterimia, sehingga kedua peran *interleukin-6* tersebut menyebabkan peningkatan dari kadar IL-6.¹¹

Penelitian yang dilakukan oleh Lin et al terhadap tikus putih, IL-6 berperan dalam proses penyembuhan luka. IL-6 memiliki peran penting di dalam proses regulasi terhadap infiltrasi leukosit, angiogenesis, dan akumulasi kolagen. Angiogenesis memiliki faktor seperti FGF-1 dan FGF-2 ketika terjadi hipoksia ringan. FGF-2 bekerja dengan menstimulasi sel endotelial untuk melepaskan aktivator plasminogen dan prokolagenase. Aktivator plasminogen akan mengubah plasminogen menjadi plasmin dan prokolagenase untuk mengaktifkan kolagenase, lalu akan terjadi digesti konstituen membran dasar. Ekspresi kolagenase menghasilkan proses perbaikan jaringan pada matriks

ekstraselular dan juga memiliki peran penting dalam menginisiasi migrasi keratinosit dalam proses penyembuhan luka.¹²

2.1.4 Mekanisme Kerja Molekuler *Interleukin-6*

Interleukin-6 manusia memiliki berat molekul antara 21 hingga 28 kD, tergantung proses yang sedang berlangsung seperti glikosilasi dan fosforilasi. Melalui proses inilah maka aktivitas biologi *interleukin-6* dan kehadirannya di jaringan yang spesifik bisa terjadi. Peptida *interleukin-6* terdiri dari 212 asam amino dengan gen yang terletak pada kromosom 7p21 dengan jumlah 5 ekson dan 4 intron. *Interleukin-6* disekresikan oleh berbagai protein heterogen dengan berat molekul 19-70 kD, dengan bentuk isoform yang dominan berkisar 23-30 kD. Polipeptida *interleukin-6* berikatan dengan protein pembawa yang berbeda contohnya albumin dan *soluble interleukin-6* reseptor.¹³

Limfosit T helper dibagi menjadi Th1 yang menghasilkan sitokin proinflamasi yang berfungsi mengaktifkan imunitas seluler dan imunitas non spesifik seperti *interferon- γ* (IFN- γ), *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), *tumor necrosis factor- β* (TNF- β), juga disebut sebagai limfotoksin (LT), *interleukin-1* (IL-1), *interleukin-6* (IL-6), *interleukin-8* (IL-8), *interleukin-12* (IL-12). Th2 menghasilkan sitokin anti inflamasi yang berfungsi mengaktifkan imunitas humoral seperti *interleukin-4* (IL-4), *interleukin-10* (IL-10).¹⁴

Reseptor *interleukin-6* terdiri dari 2 molekul *transmembrane*, yaitu *interleukin-6R* dan *signal transducing subunit*. Peran pleiotropik *interleukin-6* ini baik sebagai agen proinflamasi dan anti inflamasi berkaitan dengan jalur

klasik, yaitu *interleukin-6R*. *Interleukin-6* secara normal diregulasi secara ketat dan diekspresikan dalam jumlah yang sangat sedikit, kecuali pada kondisi infeksi maupun trauma. Peran ganda dari IL-6 dapat disederhanakan menjadi peran anti inflamasi *interleukin-6* terjadi pada proses inflamasi akut yang ditandai dengan peranan dari Th2.¹³ Peningkatan asam lemak dan interleukin-6 melalui sirkulasi hati menghasilkan peningkatan akumulasi lipid hati, hal ini berkontribusi terhadap perkembangan lesi aterosklerotik oleh efek parakrin, autokrin, dan endokrin.¹⁵

2.2 *Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)*

2.2.1 Angiogenesis

Angiogenesis merupakan suatu proses pembentukan serta formasi pembuluh darah sehingga angiogenesis memainkan peranan penting dalam proses penyembuhan luka. Beberapa faktor – faktor angiogenik dan sitokin yang berperan penting dalam pertumbuhan kapiler pembuluh darah baru diantaranya *Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)*, *Fibroblast Growth Factor (FGF)*, *Tumor Necrosis Factor – alpha (TNF- α)*, *Transforming Growth Factor – beta (TGF- β)*, dan *Angiopoietins (Ang)*.¹⁶

Proses angiogenesis pada penyembuhan luka meliputi beberapa langkah diantaranya: vasodilatasi, degradasi membrana basalis, migrasi sel endotel, dan proliferasi sel endotel.¹⁷

1. Vasodilatasi

Vasodilatasi merupakan salah satu proses unik dari VEGF dimana bertujuan untuk meningkatkan permeabilitas vaskular. VEGF akan menstimulasi *Nitric Oxide Synthase* (NOS) dan aktifitas *Cyclooxygenase*. Vasodilatasi akan meningkatkan sensitifitas dari *growth factors*.

2. Degradasi membrana basalis

VEGF menginduksi faktor – faktor prokoagulan pada sel sendotel, seperti faktor *Von-Willebrand* yang dapat memediasi adhesi dan agregasi dari platelet. Platelet kemudian akan sintesis dan mengeluarkan VEGF lebih banyak lagi. VEGF secara langsung mensekresi *Interstitial collagenase* (MMP-1), *Tissue inhibitor of metalloproteinase* (TIMP-1), dan *Gelatinase A* (MMP-2). Keadaan vaskular lokal yang diinduksi oleh VEGF kemudian akan memicu migrasi sel endotel. MMP-2 dapat medegradasi kolagen tipe-IV, yang merupakan konstituen dari vaskuler membrane basalis, sedangkan MMP-1 akan memecah kolagen tipe I-III. Hasil dari pemecahan proteolysis ini akan memecah membrana basalis dan matrix ekstraselular dan memfasilitasi pergerakan endothelial ke ruang ekstraselular.

3. Migrasi sel endotel

Migrasi sel endotel yang diinduksi oleh VEGF melalui 2 mekanisme:

- Mekanisme 1: Kemotaksis

Proses kemotaksis meliputi interaksi antara molekul adhesi dan matrix ekstraselular.

- Mekanisme 2: Peningkatan permeabilitas vascular

Dengan meningkatnya permeabilitas vaskular menyebabkan bocornya protein plasma fibrinogen menstimulasi migrasi dari sel endotel.

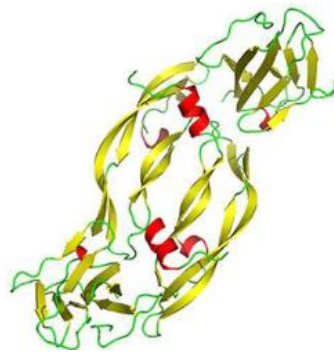
4. Proliferasi sel endotel

VEGF menginduksi pertumbuhan sel endotel pada permukaan dari matriks kolagen serta stimulasi respon proliferasi melalui stimulasi dari fibronectin dan integrin β_3 .

2.2.2 Definisi VEGF

Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) merupakan suatu signal protein yang bersifat unik karena memiliki efek multiple dalam proses penyembuhan luka, termasuk diantaranya angiogenesis, serta pada penelitian terbaru VEGF juga menunjukkan epitelisasi dan deposit dari kolagen.¹⁸

Vascular endothelial growth factor (VEGF) adalah glikoprotein pengikat heparin, suatu faktor dominan yang mempunyai kemampuan untuk memacu permeabilitas vaskuler (disebut juga vascular permeability factor; VPF) dan proliferasi sel endotel dalam peranannya pada proses angiogenesis. VEGF dikatakan memiliki kriteria sebagai *direct-acting angiogenesis growth factor*, yang merupakan faktor pertama yang diproduksi saat embryogenesis untuk mengontrol proses angiogenesis.¹⁹



Gambar 2.1 Struktur Protein Faktor Angiogenesis, VEGF
(Sumber : Berman, et al, yang dikutip oleh Frisca)¹⁷

2.2.3 Struktur dan Lokasi VEGF

Ikatan VEGF dengan reseptornya terjadi pada sel endotel, dan merangsang motilitas sel endotel vaskuler serta sel monosit. VEGF secara selektif dan reversibel, memungkinkan permeabilitas sel endotel terhadap plasma dan protein plasma tanpa mengakibatkan injury pada sel endotel tersebut. Protein VEGF diekspresikan oleh berbagai jaringan dan organ. VEGF terdiri dari N-linkage glycosylation site, yang memiliki 9 isoform mRNA, diantaranya adalah: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F, dan *placental growth factor* (PlGF).²⁰

Vascular endothelial growth factor A (VEGF-A), atau yang lebih sering disebut VEGF adalah glikoprotein dengan ukuran 34-42 kDa, *dimeric*, berikatan dengan disulfida. Protein VEGF meningkatkan permeabilitas kapiler dan proliferasi sel endotel melalui ikatannya dengan reseptor spesifik *tyrosine kinase family*. Pada jaringan normal, level VEGF paling tinggi didapatkan pada jaringan paru, ginjal, jantung, dan kelenjar adrenal pada manusia dewasa. Pada level yang lebih rendah, VEGF didapatkan pada organ hati, limpa, dan

mukosa lambung. Pada neoplasma ganas, VEGF terekspresi pada keganasan payudara, kolorektal, paru, dan prostat.²¹

Vascular endothelial growth factor B (VEGF-B) terdapat pada organ jantung dan susunan saraf pusat, terekspresi pada neoplasma payudara, thymoma, fibrosarkoma, non hodgkin lymphoma, dan melanoma maligna. VEGF-C terdapat pada organ jantung, ovarium, plasenta, otot bergaris, dan usus halus. Terekspresi pada neoplasma payudara, serviks, kolon, paru, prostat, dan lambung. VEGF-C dan VEGF-D dapat berikatan dengan VEGFR3 merupakan pemicu proses limfogenesis. VEGF-E merupakan faktor non-human, menstimulasi kemotaksis, proliferasi, dan sprouting pada sel endotel vaskuler yang dikultur dan pada angiogenesis in vivo. VEGF-F mempunyai aktivitas permeabilitas vaskuler yang mirip VEGF-E. Sedangkan PlGF berlokasi pada plasenta, berperan meningkatkan signaling VEGF.¹⁹

2.2.4 Vascular Endothelial Growth Factor Receptor (VEGFR)

Reseptor VEGF tergolong pada reseptor tirosin kinase, terdiri dari: VEGFR-1/Flt-1, VEGFR-2/KDR/Flk-1 dan VEGFR-3/Flt-4.²⁰

- a. VEGFR-1 terdapat di endotel vaskuler, haematopoietic stem cells, makrofag dan monosit. Selain bentuk terikat, VEGFR-1 juga mempunyai bentuk yang terlarut dalam serum disebut *soluble fms-like tyrosinekinase-1* (sflt-1).¹⁶ Ligan-ligan dari VEGFR-1 yaitu: VEGF-A, VEGF-B dan PlGF.
- b. VEGFR-2 terdapat di endotel vaskuler dan limfatik, sedangkan Ligan-ligan untuk VEGFR-2 yaitu: VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D dan VEGF-E

- c. VEGFR-3 terutama terdapat di sel-sel endotel limfatik. Ligan-ligan untuk VEGFR-3 yaitu: VEGF-C dan VEGF-D

2.2.5 Peran VEGF pada Penyembuhan Luka Bakar

Peran VEGF pada angiogenesis meliputi peningkatan migrasi sel endotel, peningkatan mitosis sel endotel, peningkatan aktivitas *methane monooxygenase*, peningkatan aktivitas $\alpha\text{v}\beta 3$, penyusunan lumen pembuluh darah, kemotaktik untuk makrofag dan *granulocytes* dan vasodilatasi secara tidak langsung melalui pengeluaran NO atau EDRF. Salah satu fungsi VEGF yang pertama kali diketahui adalah memediasi peningkatan permeabilitas pembuluh darah pada mikrovaskular tumor. Oleh karena itu, VEGF disebut pula *Vascular Permeability Factor* (VPF).²²

2.2.5 Mekanisme Kerja Molekuler VEGF

VEGF pada masa awal perkembangan vaskuler berikatan dengan salah satu reseptornya (VEGFR-2) pada angioblast dan menginduksi pembentukan dan proliferasi sel endotel. Kemudian VEGF berikatan dengan reseptor kedua (VEGFR-1) menginduksi karakteristik pembentukan tubulus pada kapiler. Perjalanan angiogenesis selanjutnya dikontrol oleh angiopoitin (Ang1 dan Ang2). Ang1 berinteraksi dengan reseptor pada sel endotel, disebut Tie2, mengarahkan sel periendothel untuk menjaga stabilisasi pembuluh yang baru terbentuk. Interaksi Ang1/Tie2 menyebabkan maturasi pembuluh darah dari tubulus endotel yang simple menjadi struktur vaskuler yang lebih rumit dan menjaga keseimbangan endotel. Berlawanan dengan itu, Ang2 juga berikatan dengan Tie2 melonggarkan sel endotel sehingga menjadi lebih

responsif terhadap rangsangan *grow factor* seperti VEGF atau bila tidak ada VEGF menjadi lebih responsive terhadap inhibitor angiogenesis.²³

2.3 Kolagen

2.3.1 Definisi Kolagen

Kolagen adalah protein alami terkuat yang banyak terdapat pada tubuh manusia. Kolagen merupakan protein triple helik dan tersebar di seluruh tubuh. Fungsi kolagen antara lain sebagai pengikat jaringan, berperan dalam pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis), dan perbaikan jaringan. Kolagen salah satu elemen yang membentuk matriks ekstra seluler jaringan, memiliki fungsi sesuai lokasinya sebagai kekuatan tegang jaringan seperti pada tendon, tulang, tulang rawan dan kulit.²⁴

2.3.2 Sintesis Kolagen

Rantai kolagen disintesis diawali sebagai prekursor disebut prokolagen, didalam lumen *Reticulum Endoplasma* (ER), merupakan rantai polipeptida. Rantai prokolagen mengalami serangkaian reaksi *glikolisasi*, *hidroksilasi*, dan pembentukan ikatan disulfida. Setelah perakitan prokolagen type I selesai, selanjutnya diekskresikan ke dalam ekstraseluler. Di ruang ekstraseluler enzim prokolagen peptidase akan menghapus propeptide terminal-N dan C-terminal. Protein yang dihasilkan disebut tropokolagen atau kolagen, hampir seluruhnya adalah triple helix. Selanjutnya akan membentuk fibril di dalam ekstraseluler.²⁵

2.3.3 Struktur Kimia Kolagen

Kolagen merupakan protein yang menyusun 20 sampai 25% dari seluruh protein tubuh. Pembentukan rantai pro α yang merupakan prekursor kolagen diawali dengan sintesis rantai prepro α di dalam ribosom retikulum endoplasma (ER), rantai prokolagen α terjalin menjadi *triple helices*. Asam amino ketiga pada rantai α disebut sebagai glisin; dua asam amino kecil lainnya dihidroksilasi menjadi hidroksiprolin dan hidroksilisin. Bentuk *triple helix* dari rantai α seperti sebuah batang, dimana kolagen tipe 1 dan 2 berukuran panjang, 300 nm dan lebar 1,5 nm. Molekul prokolagen yang homotrimerik, ketiga rantainya identik, sedangkan yang heterotrimerik, dua atau ketiga rantainya memiliki sekuen yang tidak sama. Kombinasi dari banyak rantai prokolagen α akan menentukan tipe dari kolagen dengan struktur dan fungsi yang berbeda. Pada kolagen tipe I, tipe II dan tipe III, molekul kolagen bersatu dan menjadi berkelompok bersama-sama membentuk fibril.²⁶

2.3.4 Peran Kolagen pada Penyembuhan Luka

Kolagen memegang peranan yang sangat penting pada proses penyembuhan luka. Kolagen mempunyai peranan antara lain dalam hemostasis, interaksi dengan trombosit, interaksi dengan fibronectin, meningkatkan eksudasi cairan, meningkatkan komponen seluler, meningkatkan faktor pertumbuhan dan mendorong proses fibroplasia dan terkadang pada proliferasi epidermis. Lebih dari 20 jenis kolagen telah diidentifikasi, jenis kolagen utama pada manusia adalah tipe I, II dan III, yang

membentuk 80% dari kolagen tubuh. Serabut ini berperan dalam penyembuhan luka karena peran kemotaktiknya untuk menarik sel seperti fibroblas dan keratinosit. Hal ini kemudian membantu mempercepat proses debridemen, angiogenesis, dan reepitelialisasi.²⁷

2.4 Luka Bakar Derajat II

2.4.1 Definisi Luka Bakar Derajat II

Luka bakar merupakan rusak atau hilangnya sebagian dari jaringan kulit akibat perubahan suhu, panas/radiasi, dan zat kimia. Beratnya luka bakar ditentukan berdasarkan luas, letak, dan dalamnya luka. Luka bakar merupakan kerusakan integritas kulit atau jaringan organik lainnya yang disebabkan oleh trauma akut. Luka bakar terjadi diakibatkan karena cairan panas (luka bakar), padatan panas (luka bakar kontak), atau api (luka api) termasuk juga radiasi, radioaktivitas, listrik, gesekan dan bahan kimia.²⁸

2.4.2 Etiologi

Sumber luka bakar harus ditentukan terlebih dahulu sebelum dilakukan evaluasi dan penanganan. Menurut Warby and Maani luka bakar dapat dibedakan menjadi 4 macam,²⁹ antara lain:

1. Paparan Api (*Thermal Burn*)

a. Api (Flame)

Flame terjadi akibat kontak langsung antara jaringan dengan api terbuka, sehingga menyebabkan cedera langsung ke jaringan tersebut. Api dapat membakar pakaian terlebih dahulu baru mengenai tubuh.

Serat alami pada pakaian memiliki kecenderungan untuk terbakar, sedangkan serat sintetik cenderung meleleh atau menyala dan menimbulkan cedera tambahan berupa cedera kontak.

b. Benda

Panas (Kontak) Cedera ini terjadi akibat kontak dengan benda panas. Luka bakar yang dihasilkan terbatas pada area tubuh yang mengalami kontak.

c. Scald (Air Panas)

Semakin kental cairan dan lama waktu kontak, menimbulkan kerusakan yang semakin besar. Luka disengaja atau akibat kecelakaan dapat dibedakan berdasarkan pola luka bakarnya. Pada kasus kecelakaan, luka umumnya menunjukkan pola percikan, yang satu sama lain dipisahkan oleh kulit sehat. Sedangkan pada kasus yang disengaja, luka melibatkan keseluruhan ekstremitas dalam pola sirkumferensial dengan garis yang menandai permukaan cairan.

2. Bahan Kimia (*Chemical Burn*)

Luka bakar karena bahan kimia seperti berbagai macam zat asam, basa, dan bahan lainnya. Konsentrasi zat kimia, lamanya kontak dan jumlah jaringan yang terpapar menentukan luasnya injury. Luka bakar kimia terjadi karena kontak dengan zat-zat pembersih yang sering dipergunakan untuk keperluan rumah tangga dan berbagai zat kimia yang dipergunakan dalam bidang industri dan pertanian.

3. Listrik (*Electrical Burn*)

Luka bakar listrik disebabkan oleh panas yang digerakan dari energi listrik yang dihantarkan melalui tubuh. Berat ringannya luka dipengaruhi oleh lamanya kontak, tingginya tegangan (voltage) dan cara gelombang elektrik itu sampai mengenai tubuh.

4. Radiasi (*Radiasi Injury*)

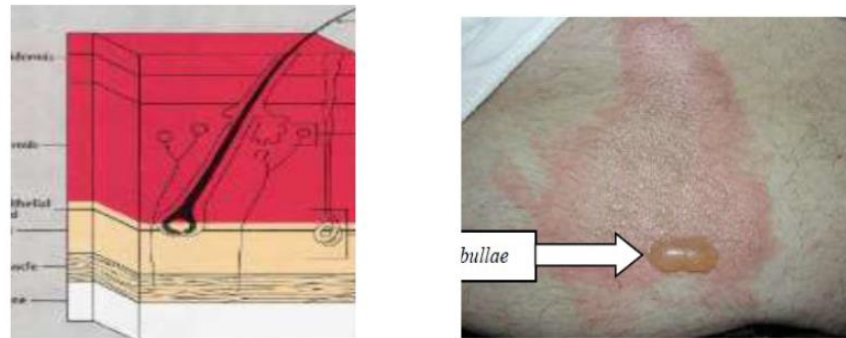
Luka bakar radiasi disebabkan oleh terpapar sinar matahari atau terpapar sumber radio aktif untuk keperluan terapeutik dalam dunia kedokteran dan industri.

2.4.3 Klasifikasi Luka Bakar Derajat II

Menurut Sudarko, Luka bakar derajat II terbagi menjadi 2, yaitu:³⁰

1. Superficial partial thickness (IIa)

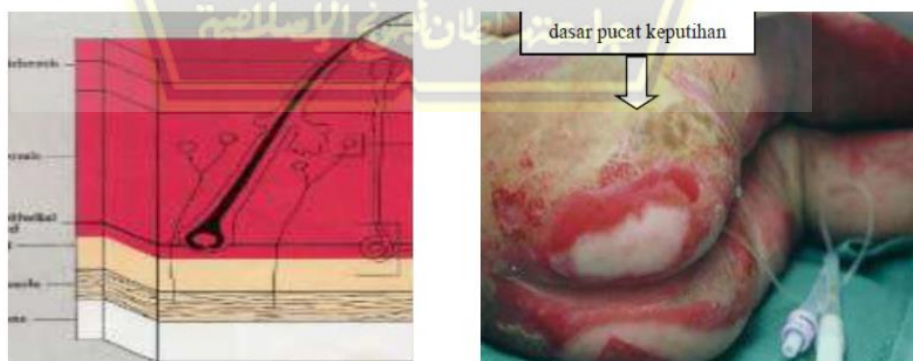
- a) Luka bakar meliputi epidermis dan lapisan atas dari dermis
- b) Kulit tampak kemerahan, oedem, dan nyeri lebih berat daripada luka bakar derajat I.
- c) Adanya bula yang muncul beberapa jam setelah terpapar luka.
- d) Apabila bula disingkirkan akan terlihat luka berwarna merah muda yang basah
- e) Luka bersifat sangat sensitif dan akan menjadi lebih pucat bila terkena tekanan.
- f) Luka akan sembuh dengan sendirinya dalam 3 minggu (apabila tidak terkenainfeksi), tapi warna kulit tidak akan sama seperti sebelumnya.



Gambar 2.2 Gambar skematik dan gambar klinis luka bakar derajat II
(Sumber : Diambil dari Hettiaratchy yang dikutip oleh Hidayat)³¹

2. Deep partial thickness

- a) Luka bakar meliputi epidermis dan lapisan dalam dari dermis disertai dengan adanya bula
- b) Permukaan luka dengan bercak merah muda dan putih karena variasi dari vaskularisasi pembuluh darah (bagian yang putih hanya memiliki sedikit pembuluh darah dan yang merah muda memiliki beberapa aliran darah)
- c) Luka dapat sembuh dalam 3-9 minggu.



Gambar 2.3 Gambar skematik dan gambar klinis luka bakar derajat II.
(Sumber : Diambil dari Hettiaratchy yang dikutip oleh Hidayat)³¹

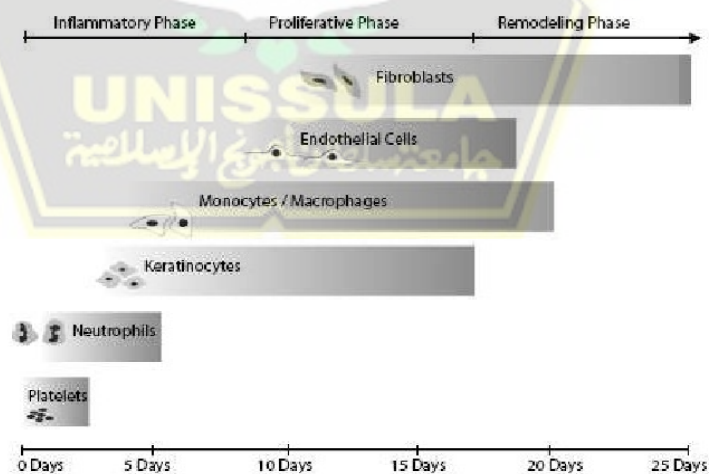
2.4.4 Tanda dan Gejala Luka Bakar Derajat II

Menurut Rusihana, tanda dan gejala dari luka bakar derajat 2 adalah sebagai berikut:³²

1. Nyeri
2. Hiperestesia
3. Sensitif terhadap udara panas dan dingin
4. Melepuh
5. Dasar luka berbintik-bintik merah
6. Permukaan luka basah
7. Edema

2.4.5 Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat II

Ada 3 fase dalam penyembuhan luka bakar pada hari ke 0 sampai hari ke-5 terjadi fase inflamasi, pada hari ke-5 sampai ke-12 terjadi fase proliferasi dan selanjutnya terjadi fase remodeling.



Gambar 2.4 Fase penyembuhan luka
(Sumber : Diambil dari Gurtner dalam Hidayat) ³¹

Menurut Majid dan Prayogi (2013), Proses penyembuhan luka bakar tergantung pada jenis jaringan yang rusak dan penyebab dari luka bakar tersebut. Proses penyembuhan luka bakar terdiri dari 3 fase yaitu:

1. Fase Inflamasi

- a) Terjadi pada hari ke-0 sampai hari ke-5
- b) Respon segera setelah terjadi luka atau pembekuan darah atau untuk mencegah kehilangan darah.
- c) Karakteristiknya adalah terjadi tanda-tanda inflamasi seperti adanya tumor, rubor, dolor, calor, dan function laesa.
- d) Lama fase ini bisa singkat jika tidak terjadi infeksi
- e) Merupakan fase awal terjadi hemostasis dan fase akhir terjadinya fagositosis

2. Fase Proliferasi atau Epitelisasi

- a) Terjadi pada hari ke-3 sampai dengan hari ke-14
- b) Disebut juga dengan fase granulasi oleh karena adanya pembentukan jaringan granulasi pada luka atau luka nampak merah segar dan mengkilat.
- c) Jaringan granulasi terdiri dari kombinasi antara fibroblast, sel inflamasi, pembuluh darah yang baru, fibronectin, dan hyaluronic acid.
- d) Epitelisasi terjadi pada 24 jam pertama ditandai dengan penebalan lapisan epidermis pada tepian luka.

- e) Epitelisasi merupakan proses dimana *keratinocytes* bermigrasi dan membelah untuk menutup kembali permukaan kulit atau mukosa pada luka partial-thickness, misalnya pada luka bakar derajat satu dan dua.
- f) *Keratynocytes* merupakan sel yang paling banyak pada epidermis. *Keratynocytes* memproduksi protein fibrosa yang memberi sifat *protective properties* pada epidermis. *Keratynocytes* tumbuh pada bagian terdalam epidermis dari lapisan sel (stratum basale) yang mengalami mitosis hamper secara terus menerus.
- g) Penyembuhan luka sangat dipengaruhi oleh re-epitelisasi, karena semakin cepat proses reepitelisasi maka semakin cepat pula luka tertutup sehingga semakin cepat penyembuhan luka.
- h) 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 neovascular.³¹

3. Fase Pematangan atau Remodelling

- a) Berlangsung dari beberapa minggu sampai beberapa tahun
- b) Terbentuknya kolagen yang baru yang mengubah bentuk luka serta peningkatan kekuatan jaringan (*tensile strength*)
- c) Terbentuk jaringan parut (*scar tissue*) sekitar 50-80% sama kuatnya dengan jaringan sebelumnya.

- d) Terdapat pengurangan secara bertahap pada aktivitas selular dan vaskularisasi jaringan yang mengalami perbaikan.

2.4.6 Faktor-Faktor yang mempengaruhi Penyembuhan Luka

1. Infeksi

Infeksi pada luka dapat menghambat penyembuhan. Bakteri merupakan organisme utama penyebab infeksi.

2. Nutrisi

Tambahan nutrisi dibutuhkan dalam proses penyembuhan luka. Pasien memerlukan diet kaya protein, karbohidrat, lemak, vitamin C dan A, serta mineral seperti Fe dan Zn.³³

3. Obat

Obat antiinflamasi, heparin dan anti *neoplasmik* mempengaruhi penyembuhan luka. Penggunaan antibiotik yang lama menyebabkan seseorang rentan terhadap infeksi.

4. Benda Asing

Benda asing seperti pasir atau mikroorganisme menyebabkan terbentuknya abses yang timbul dari serum, fibrin, jaringan sel mati dan leukosit yang membentuk cairan kental atau nanah.

5. Diabetes Melitus

Hambatan terhadap sekresi insulin mengakibatkan peningkatan gula darah sehingga nutrisi tidak dapat masuk ke dalam sel. Hal ini dapat mengganggu proses penyembuhan luka.

6. Keadaan Luka

Keadaan khusus dari luka, misalnya lokasi, dapat mempengaruhi kecepatan dan efektifitas penyembuhan luka. Beberapa luka dapat gagal untuk menyatu.

7. Usia

Anak dan dewasa penyembuhannya lebih cepat dibandingkan orang tua, karena orang tua lebih sering menderita penyakit kronis, sehingga terjadi penurunan fungsi hati yang dapat mengganggu sintesis faktor pembekuan darah.

8. Iskemia

Iskemia merupakan keadaan dimana terdapat penurunan suplai darah pada bagian tubuh akibat obstruksi aliran darah. Iskemia terjadi akibat pembalutan pada luka yang terlalu ketat atau kencang, dan dapat disebabkan oleh faktor internal yaitu adanya obstruksi pembuluh darah itu sendiri.

9. Sirkulasi (Hipovolemia) dan Oksigenasi

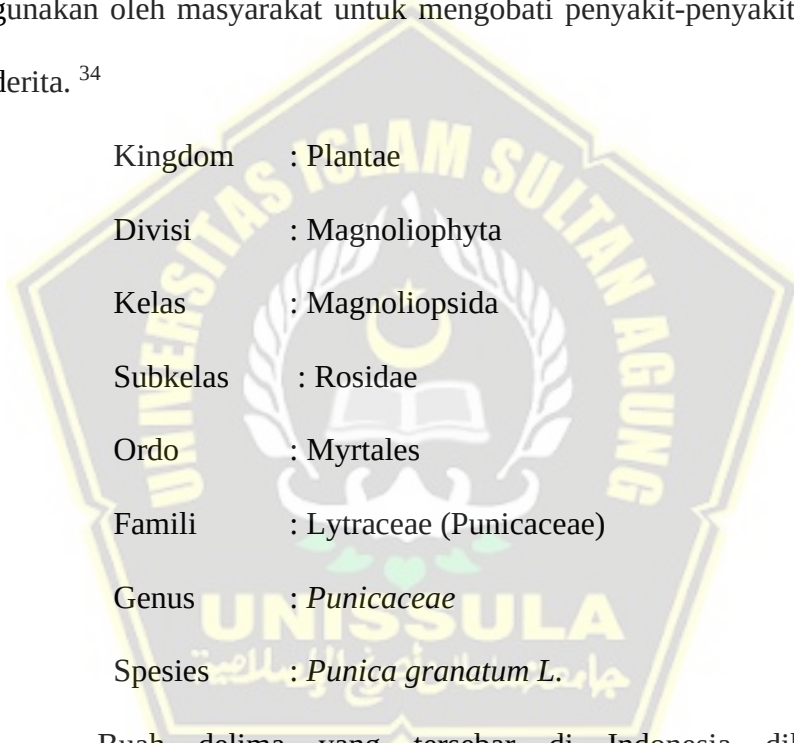
Kondisi fisik dapat mempengaruhi penyembuhan luka pada penderita obesitas, penyembuhan luka menjadi lambat dan risiko infeksi lebih tinggi dikarenakan kurangnya suplai darah ke jaringan. Aliran darah dan proses *oksigenasi* juga dapat terganggu pada penderita hipertensi, diabetes melitus, anemia, gangguan pembuluh darah perifer dan pernapasan kronik. Kurangnya volume darah mengakibatkan

vasoconstriction dan menurunkan pengiriman oksigen dan nutrisi dalam penyembuhan luka.

2.5 Delima (*Punica Granatum L.*)

2.5.1 Klasifikasi

Delima adalah salah satu tanaman yang banyak ditemukan di asia tengah, Asia selatan, Eropa, Amerika Utara dan Selatan. Delima banyak digunakan oleh masyarakat untuk mengobati penyakit-penyakit kronik yang diderita.³⁴



Kingdom : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Subkelas : Rosidae
 Ordo : Myrtales
 Famili : Lytraceae (Punicaceae)
 Genus : *Punicaceae*
 Spesies : *Punica granatum L.*

Buah delima yang tersebar di Indonesia dikelompokkan berdasarkan warna buahnya dan ada 3 jenis buah delima yakni delima Putih, delima merah dan delima hitam. Dan yang paling sering digunakan dan paling populer ialah delima merah. Delima merah memiliki rasa lebih manis dan segar, sedangkan delima putih agak sukar ditemukan dipasaran. Rasa dari delima merah sedikit sepat dan kesat serta kurang manis.³⁵

2.5.2 Morfologi dan Ekologi

1. Akar

Akar delima merupakan akar tunggang dengan bentuk silindris, memiliki serabut akar dibagian samping akar utama. Panjang akar utama mencapai 10 – 20 m atau lebih. Akar ini berwarna coklat muda dan mampu menembus bagian tanah sampai kedalaman 5 – 10 m. Sama seperti tanaman lainnya, akar tersebut berperan dalam penyerapan air dan zat hara dari dalam tanah juga untuk menopang tanaman agar kokoh berdiri.³⁶

2. Batang

Tanaman delima memiliki batang berkayu yang bentuknya silindris namun memiliki ranting bersegi. Percabangan tanaman delima banyak dan dilengkapi dengan duri pada ketiak daun. Batang tanaman delima berwarna coklat namun berwarna hijau ketika batang masih muda. Percabangan delima memiliki karakteristik lemah dan mudah patah.³⁷

3. Daun

Delima memiliki daun tunggal dengan dilengkapi daun yang pendek dan letaknya berkelompok. Daun ini berbentuk lonjong dengan pangkal daun runcing dan ujung tumpul. Tepi daun delima rata, permukaan bagian atas daun mengkilap dan pertulangan daun menyirip. Daun ini memiliki panjang 1 – 9 cm dan lebar 0,5 – 2,5 cm. Daun berwarna hijau muda.³⁸

4. Bunga

Delima berbunga sepanjang tahun dan memiliki bunga tunggal dengan tangkai bunga pendek. Bunga tersebut keluar dari ujung ranting dan di ketiak daun yang letaknya paling atas. Tanaman delima biasanya memiliki 1- 5 kuntum bunga yang berada di ujung ranting, teksturnya berlilin. Bunga ini memiliki panjang dan lebar sekitar 4 – 5 cm. Mahkota bunga terdiri dari 3 – 7 helai dan didalam bunga terdapat banyak sekali benangsari. Putik berada di tengah bunga dengan ukuran lebih panjang dari benang sari. Sementara kelopak bunga dan penyangganya memiliki panjang yang sama yakni sekitar 2 -3 cm. Warna bunga delima juga mempengaruhi warna dagingnya. Bunga delima berwarna merah, putih dan ungu. Penyerbukan pada tanaman bunga umumnya terjadi secara alami dengan bantuan serangga. Selain penyerbukan alami, juga bisa dilakukan penyerbukan buatan dengan bantuan manusia.³⁹

5. Buah

Buah delima bertipe buah buni dengan bentuk bulat dengan mahkota berupa kelopak bunga yang tidak rontok pada bagian bawahnya. Warna kulit buah berwarna hijau kekuningan dengan permukaan halus. Bagian dalam buah memiliki kulit tipis berwarna putih sebagai tempat menempelnya butiran daging buah. Daging buah berwarna putih, kekuningan hingga merah jambu. Daging buah delima sangat tipis dan di dalam daging buahnya masing – masing terdapat biji. Dalam satu

buah delima terdapat 700 – 800 biji. Buah delima memiliki diameter 5 – 12 cm. Buah biasanya bergantung di bagian tandan. Buah delima rasanya manis keasaman, segar dan mengandung banyak buah. Buah delima mengandung banyak zat yang berguna bagi tubuh antara lain asam malat, glukosa, fruktosa, maltose, vitamin A dan C, mineral, tannin dan asam sitrat. Tidak hanya itu, ada beberapa zat aktif seperti polifenol, flavonoid, saponin, alkaloid yang terkandung di dalam buah. Di dalam buah delima juga mengandung antioksidan yang membantu mencegah oksidasi LDL yang bisa mengakibatkan penyumbatan pembuluh darah. Disamping itu, buah delima juga mempunyai khasiat dalam mengatasi berbagai penyakit yang berhubungan dengan sendi, tulang dan gigi.⁴⁰

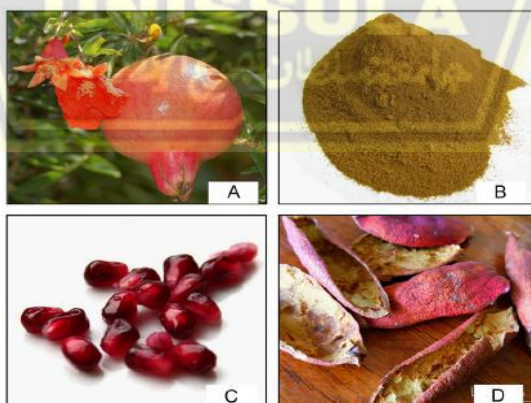
6. Biji

Biji delima berbentuk granul dengan bulat panjang yang bersegi dan agak pipih. Tekstur biji keras dan tersusun tidak beraturan di dalam buah. Diluar buah ditutupi daging delima berupa aril yang berwarna merah, putih atau ungu. Biji delima berwarna putih kecokelatan dan sangat kaya akan minyak alami. Kandungan minyak di dalamnya mencapai 20 % dari berat total biji delima dalam satu buah. Nah, ulasan di atas merupakan ulasan tentang klasifikasi dan morfologi tanaman delima yang sangat penting dipelajari terlebih untuk kita yang ingin membudidayakannya. Delima selain kaya akan manfaat untuk tubuh dan rambut juga dikenal sebagai buah yang eksotik. Buah ini

memiliki nilai ekonomis yang tinggi dan banyak dicari dimanapun tempatnya.⁴¹

7. Kulit

Kulit delima memiliki efek antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan buah dan bijinya. Kulit delima memiliki karakteristik disusun oleh membran seberat 26-30% dari total berat buah dan mengandung komponen *phenol* yang substansial termasuk flavonoids (*anthocyanins*, *cathecin*) dan *hydrolysable* tannins (*punicalin*, *pedunculagin*, *punicalagin*, *gallic*, dan *ellagic acid*). Semua komponen ini terdapat dalam kulit dan jus delima, dimana sebanyak 92% aktivitas antioksidan didapatkan pada delima. Kulitnya kaya akan antioksidan dan membantu mencegah bakteri dan infeksi lainnya. Kulit buah delima dapat mencegah kerusakan kolagen di kulit untuk meningkatkan pertumbuhan sel yang membantu menunda tanda-tanda penuaan dan kerutan di wajah secara efektif.⁴²



Gambar 2.5. A. Bunga, daun dan buah delima; B. Kulit delima bubuk; C. Pulir buah delima; D. Kulit delima kering.
(Sumber : dikutip dari dalam tesis, Tanggo)⁴²

2.5.4 Efek Kulit Delima terhadap Penyembuhan Luka Bakar

Sejak diketahui adanya peranan radikal bebas dalam patogenesis luka, mulai dilakukan berbagai penelitian mengenai aktivitas antioksidan. Hasilnya mengindikasikan bahwa ekstrak kulit delima memiliki aktivitas antioksidan yang potensial dengan cara menghambat peroksidasi lemak dan meningkatkan potensi *free radical scavenging*. Perlu diingat bahwa terdapat beberapa parameter yang terlibat dalam penyembuhan luka termasuk epitelialisasi, pertahanan antioksidan dan perubahan biokimia (*hydroxyproline*).⁴³

Kulit delima memiliki efek antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan buah dan bijinya. Kulit delima memiliki karakteristik disusun oleh membran seberat 26-30% dari total berat buah dan mengandung komponen phenol yang substansial termasuk flavonoids (*anthocyanins*, *catechin*) dan *hydrolysable tannins* (*punicalin*, *pedunculagin*, *punicalagin*, *gallic*, dan *ellagic acid*). Semua komponen ini terdapat dalam kulit dan jus delima, dimana sebanyak 92% aktivitas antioksidan didapatkan pada delima.⁴⁴

Aktivitas antioksidan kulit delima dihubungkan dengan komponen phenol yang dikandungnya dalam bentuk *anthocyanins*, *gallotannins*, *ellagitannins*, *gallagylesters*, *hydroxybenzoicacids*, *hydroxycinnamic acid* dan *dihydroflavonol*, dimana *ellagic acid* merupakan komponen phenol yang dominan pada delima.⁴⁵

Beberapa penelitian telah membuktikan efek *cytoprotective ellagic acid* dari kulit delima pada kerusakan sel dan DNA secara oksidatif. Konsentrasi *ellagic acid* yang lebih tinggi berhubungan secara langsung dengan aktivitas antioksidan kulit delima. Kandungan *ellagic acid* yang terdapat pada kulit dan jus delima dilaporkan sebesar 10-50 mg/100g dan 1-2,38 mg/100ml.⁴²

Telah diketahui bahwa *Reactive Oxygen Species* (ROS) dapat dikurangi jumlahnya dalam proses penyembuhan luka karena memiliki efek yang berbahaya terhadap sel dan jaringan. Keberadaan radikal bebas ini mengakibatkan terjadinya *oxidative stress* sehingga menimbulkan peroksidasi lemak, kerusakan DNA, dan inaktivasi enzim, termasuk *Free Radical Scavenging Enzyme* (FRSE). Bukti yang menyatakan adanya keterlibatan oksidan dalam patogenesis berbagai penyakit menimbulkan kesimpulan bahwa antioksidan dapat menjadi suatu terapi yang berguna pada keadaan ini. Dalam hal ini, pemakaian ekstrak kulit delima secara topikal, dimana terkandung komponen *free radical scavenging*, dapat mempercepat penyembuhan luka secara signifikan dan melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif. Selanjutnya dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan dari ekstrak delima memiliki peranan penting dalam pencegahan penyakit yang berhubungan dengan radikal bebas, termasuk proses penuaan, luka dan ulcer.⁴⁶

2.6 Pengaruh Pemberian Esktrak Kulit Delima Terhadap IL-6, VEGF dan Kolagen pada Luka Bakar Derajat II

Luka bakar derajat dua menyebabkan kerusakan, bahkan hilangnya jaringan kulit, sehingga terbentuk debris seluler. Proses penyembuhan luka bakar dimulai dengan proses inflamasi. Sel-sel inflamasi pada luka bakar yakni Neutrofil dan Makrofag membantu proses fagositosis, pembersihan jaringan yang mati dan racun yang dikeluarkan oleh luka bakar. Neutrofil dan Makrofag juga berperan dalam eliminasi bakteri dengan cara memproduksi dan melepaskan beberapa *proteinase* dan *reactive oxygen species* (ROS).⁴²

Neutrofil dan Makrofag yang aktif menghasilkan berbagai sitokin proinflamasi dan sitokin antiinflamasi serta berbagai *growth factor* seperti interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), *transforming growth factor-beta* (TGF- β), *platelet derived growth factor* (PDGF), *epithelial growth factor* (EGF), serta *fibroblast growth factor*. Sitokin dan *growth factor* dalam kondisi seimbang diperlukan agar proses penyembuhan luka bakar berjalan baik. Faktor-faktor pertumbuhan, terutama IL-6 dan TGF- β . IL-6 dan TGF- β akan mengaktifasi proliferasi fibroblas serta mempengaruhi proses sintesis matriks ekstraseluler, terutama kolagen tipe I. Fibrogenesis melibatkan dua proses penting yaitu sintesis dan degradasi matrix of metalloproteinase (MMPs) dan inhibitornya yaitu *tissue inhibitor metalloproteinases* (TIMPs). Jaringan yang rusak oleh luka bakar memicu terjadinya peningkatan MMPs pada daerah luka, terutama MMPs tipe I. Fibroblas memiliki peran penting dalam proses perbaikan jaringan yang rusak tersebut. Fibroblas berperan

dalam produksi struktur protein yang digunakan selama rekonstruksi jaringan. Secara khusus, fibroblas merupakan bahan dasar serat kolagen yang akan menghubungkan dan menyatukan tepi luka.⁴⁷

Ekstrak buah delima sangat berpotensi untuk digunakan sebagai bahan obat karena telah dilaporkan dapat digunakan dalam pengobatan berbagai penyakit patologis. Ekstrak buah delima dikenal memiliki potensi antidiabetes, antibakteri, antikarsinogenik, antiaterogenik, dan antihipertensi. Ekstrak buah delima juga digunakan sebagai obat kumur untuk menjaga kebersihan mulut. Konsumsi ekstrak buah delima dalam bentuk jus juga diklaim dapat menurunkan faktor-faktor biologis penyebab inflamasi serta menurunkan oksidasi protein dan lemak, dan berbagai manfaat lain yang telah disebutkan pada bagian kajian teori. Manfaat-manfaat delima tersebut tidak lepas dari kandungan fitofenol yang bermanfaat bagi kesehatan pada delima. Buah delima kupas, termasuk biji dan sarinya mengandung asam fenolat, flavanol, flavon, flavonon, antosianidin, dan antosianin yang tinggi. Selain itu, delima juga mengandung antosianin terglukosida (pelargonidin 3,5 - diglukosida, pelargonidin 3 - glukosida), apigenin, punicalin, punicalagin, dan luteolin.⁴⁸

Sekresi dan aktivitas MMP-1 sangat rendah pada jaringan kulit yang normal. Namun pada jaringan yang rusak karena mengalami luka bakar, sekresi dan aktivitas MMP-1 meningkat. Kandungan-kandungan yang ada pada ekstrak delima tersebut diduga mampu menghambat produksi enzim *Matrix Metalloproteinase-1* (MMP-1) yang merupakan enzim pendegradasi kolagen, sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Pemberian

ekstrak delima secara topikal diduga mampu mempengaruhi pengikatan dan penyimpanan berbagai faktor pertumbuhan, terutama fibroblas dasar (FGF) yang disekresikan kedalam Matriks Ekstra Seluler (ECM). Kolagen tipe I dan III adalah komponen utama pembentuk ECM, sehingga ketersediaan kolagen yang cukup mempengaruhi ECM dalam melakukan sekresi fibroblas. Fibroblas akan bermigrasi ke daerah sekitar luka dan memecah matriks yang menghalangi migrasi tersebut. Kolagen tipe III dan fibronectin dihasilkan fibroblas pada minggu pertama dan kemudian digantikan dengan kolagen tipe I. Sel fibroblas dan keratinosit mensintesis Matrix *Metalloproteinase-1* (MMP-1), yang merupakan metalloproteinase netral yang mendegradasi protein matriks ekstraseluler termasuk kolagen tipe 1 dan 3. Pada saat terjadi luka bakar, aktivitas MMP-1 meningkat dan menyebabkan terjadinya degradasi kolagen sehingga produksi kolagen tipe 1 dan 3 mengalami penurunan. Penambahan konsentrasi ekstrak kulit delima yang diserap oleh jaringan akan meningkatkan proliferasi fibroblas. Fibroblas yang teraktivasi akan menyekresikan matriks ekstraselular, mengikat unsur matriks ekstraselular, sehingga aktivitas MMP-1 menurun dan meningkatkan gambaran produksi kolagen.

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESA

3.1 Kerangka Teori

Luka bakar merupakan kerusakan integritas kulit atau jaringan organik lainnya yang disebabkan oleh trauma akut.²⁸ Penyembuhan luka bakar merupakan proses dinamis yang kompleks yang pada awalnya terjadi inflamasi sampai nantinya terjadi perbaikan dari jaringan yang mengalami kerusakan akibat cedera tersebut.

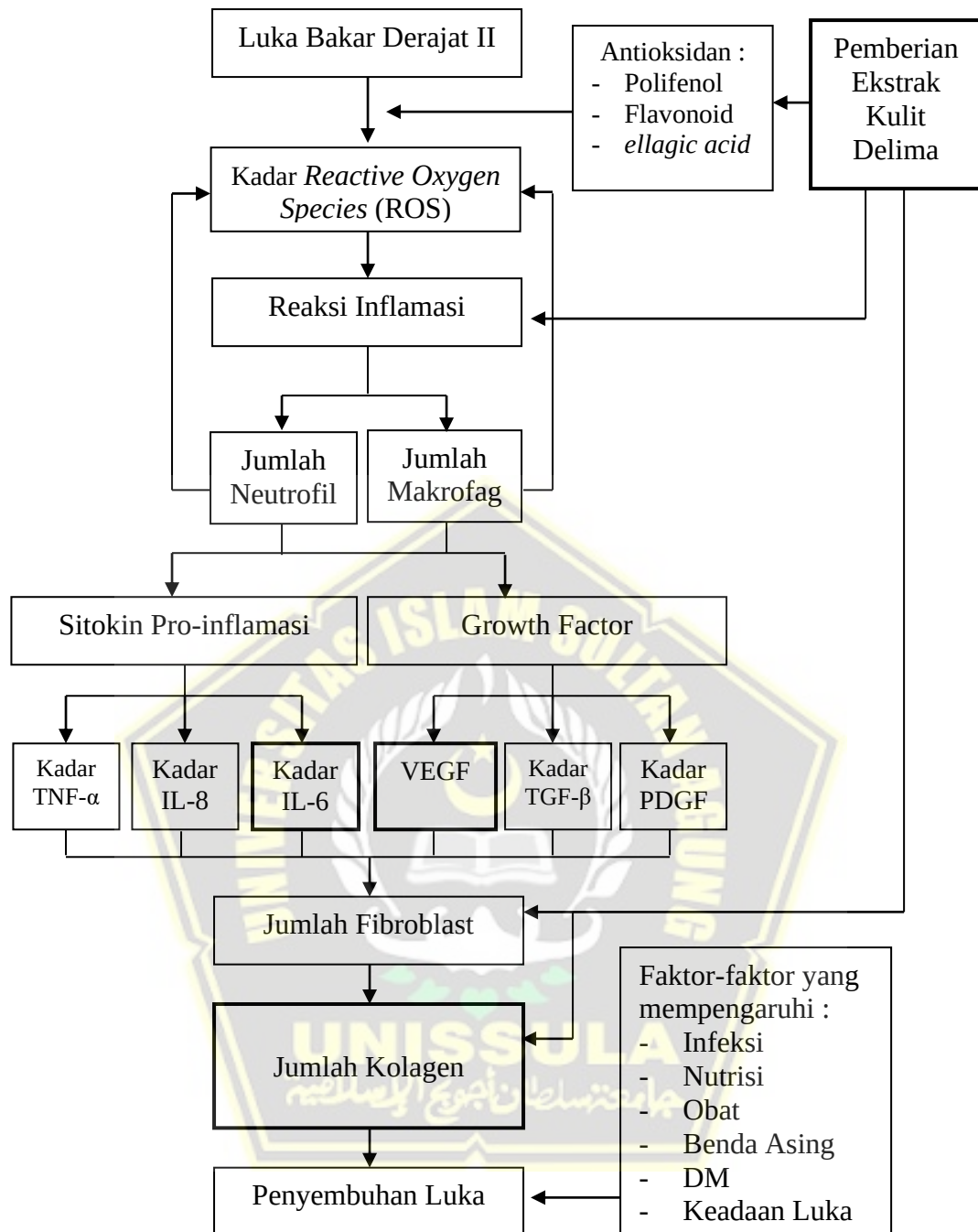
Pada fase awal reaksi inflamasi, neutrofil dan makrofag akan masuk ke dalam jaringan yang mengalami cedera atau luka akibat adanya berbagai faktor kemotaktik. Sel-sel ini akan memproduksi *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) yang dapat memberikan efek menguntungkan maupun merugikan. *Reactive Oxygen Spesies* merupakan komponen yang penting dalam proses penyembuhan luka dan diperlukan dalam kondisi homeostasis agar tidak menimbulkan stres oksidatif. ROS dengan sifat radikal bebasnya dapat memberikan efek antibakteri sehingga mencegah terjadinya reaksi inflamasi yang berkepanjangan pada luka bakar.

Neutrofil dan makrofag yang aktif menghasilkan berbagai sitokin proinflamasi seperti interleukin-6 (IL-6) dan *growth factor* seperti VEGF. Sitokin dan *growth factor* dalam kondisi seimbang diperlukan agar proses penyembuhan luka bakar berjalan baik. IL-6 dan VEGF akan mengaktifasi proliferasi fibroblas serta mempengaruhi proses sintesis matriks ekstraseluler, terutama kolagen.

Kolagen komponen utama pembentuk ECM, sehingga ketersediaan kolagen yang cukup mempengaruhi ECM dalam melakukan sekresi fibroblas. Fibroblas akan bermigrasi ke daerah sekitar luka dan memecah matriks yang menghalangi migrasi tersebut.

Tubuh sendiri memiliki beberapa sistem antioksidan dan redoks untuk melindungi diri terhadap kerusakan yang ditimbulkan akibat adanya stres oksidatif. *Reactive Oxygen Species* (ROS) dapat dikurangi jumlahnya dalam proses penyembuhan luka karena memiliki efek yang berbahaya terhadap sel dan jaringan. Keberadaan radikal bebas ini mengakibatkan terjadinya *oxidative stress* sehingga menimbulkan peroksidasi lemak, kerusakan DNA, dan inaktivasi enzim, termasuk *Free Radical Scavenging Enzyme* (FRSE) maka membutuhkan antioksidan dari luar seperti delima.

Kulit delima memiliki efek antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan buah dan bijinya. Kulit delima mengandung komponen *phenol* yang substansial termasuk flavonoids (*anthocyanins*, *cathecin*) dan *hydrolysable tannins* (*punicalin*, *pedunculagin*, *punicalagin*, *gallic*, dan *ellagic acid*). Semua komponen ini terdapat dalam kulit dan jus delima, dimana terkandung komponen *free-radical scavenging* yang dapat mempercepat penyembuhan luka bakar.

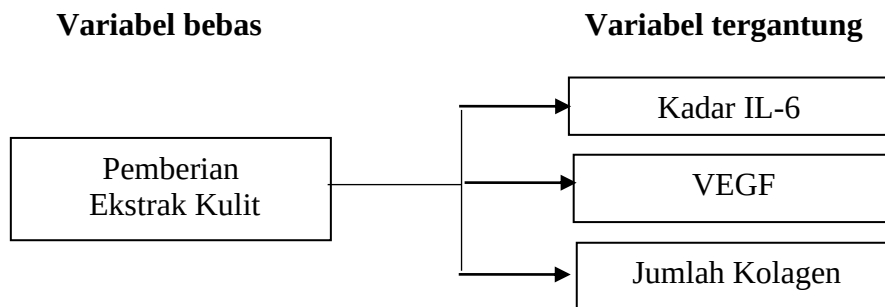


Keterangan

— : Variabel yang diteliti

Gambar 3.1 Skema Kerangka Teori

3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Skema Kerangka Konsep

3.3 Hipotesa

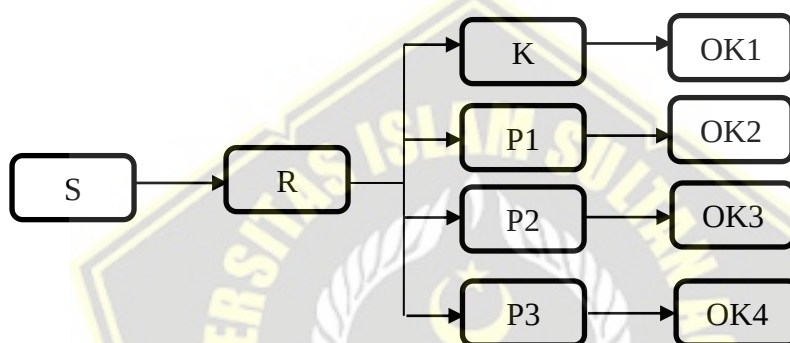
Pemberian ekstrak kulit delima secara oral berpengaruh terhadap penurunan kadar *interleukin-6* (IL-6), peningkatan VEGF dan jumlah kolagen pada tikus jantan galur *Sprague Dawley* yang diberi luka bakar derajat II.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yaitu eksperimental. Rancangan penelitian yang sesuai dengan masalah ini adalah *post test only control group design* terhadap hewan coba tikus galur *sprague dawley*.



Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

- S : Subyek penelitian
- R : Randomisasi menjadi 4 kelompok
- K : Kontrol negatif diberi luka bakar derajat II dan pemberian aquadest
- P1 : Perlakuan 1 diberi luka bakar derajat II dan pemberian ekstrak kulit delima dengan dosis 54 mg/200 gr BB
- P2 : Perlakuan 2 diberi luka bakar derajat II dan pemberian ekstrak kulit delima dengan dosis 108 mg/200 gr BB
- P3 : Perlakuan 3 diberi luka bakar derajat II dan pemberian ekstrak kulit delima dengan dosis 162 mg/200 gr BB
- OK1 : Observasi pada kelompok 1
- OK2 : Observasi pada kelompok 2

OK3 : Observasi pada kelompok 3

OK4 : Observasi pada kelompok 4

4.2 Populasi Penelitian

Populasi penelitian yaitu tikus jantan galur *sprague dawley* berumur 10-12 minggu, dengan berat 250-300 gram, yang didapat dari Laboratorium PSPG UGM Yogyakarta. Tikus dipelihara dengan pakan pellet yang terstandar dan air minum berupa air putih suhu ruangan pemeliharaan berkisar 28° – 32° C dengan ventilasi dan ruangan yang cukup. Tikus kemudian dilakukan adaptasi selama 7 hari sebelum diberi perlakuan.

4.2.1 Jumlah Sampel

Besar sampel menurut WHO,⁴⁹ perkelompok minimal 5 ekor dengan cadangan 10% (1 ekor). Sampel kemudian diambil secara acak menggunakan cara *random sampling allocation*, dibagi dalam menjadi 4 kelompok yaitu 1 kelompok kontrol negatif dan 3 kelompok perlakuan. Jumlah keseluruhan sampel tikus yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 24 ekor.⁴⁹

4.2.2 Teknik Pengambilan Sampel

Sampel didapatkan dari populasi tikus sebanyak 24 ekor yang masuk dalam kriteria inklusi dan dialokasikan menjadi 4 kelompok, 1 kelompok kontrol negatif dan 3 kelompok perlakuan secara *random sampling allocation*.

4.2.3 Kriteria Inklusi

- a. Tikus dalam keadaan aktif
- b. Secara makroskopis tikus tidak ada kelainan morfologi

4.2.4 Kriteria Eksklusi

Tikus menjadi sakit selama perlakuan

4.2.5 Kriteria Drop out

Tikus mati saat penelitian berlangsung

4.3 Variabel dan Definisi Operasional

4.3.1 Variabel

a. Variabel Bebas

Pemberian ekstrak kulit delima

b. Variabel Tergantung

1. Kadar IL-6
2. VEGF
3. Jumlah Kolagen

c. Variabel Prakondisi

Luka bakar derajat II dengan cara tikus dianestesi pada area yang akan dibuat luka bakar dengan dosis 0,2 cc lidokain dalam 2 cc aquades. Setelah tikus dibius, siapkan plat bulat *stainless steel* 2 cm yang dipanaskan menggunakan pemanas hingga suhunya 85°C. Plat tersebut kemudian ditempelkan pada kulit yang telah dicukur sebelumnya selama 5 detik.

4.3.2 Definisi Operasional

a. Ekstrak Kulit Delima

Ekstrak kulit delima adalah hasil ekstraksi kulit delima (*Punica granatum*) dalam bentuk serbuk didapatkan dari merek *Herbilogy Pomegranate Peel Extract Powder* yang sudah terstandarisasi. Serbuk tersebut ditakar dengan dosis yang telah dikonversi 54 mg/200 gr BB, 108 mg/200 gr BB, dan 162 mg/200 gr BB. Serbuk ekstrak kulit delima dicampur pelarut aquades dan diaduk dengan bantuan magnet stirrer sampai larut. Tiap kali pemberian sebanyak 3,6 cc setiap hari selama 6 hari. Skala : Nominal

b. Kadar *Interleukin-6* (IL-6)

IL-6 adalah salah satu sitokin proinflamasi yang berperan dalam penyembuhan luka. Serum untuk pemeriksaan kadar IL-6 volume 100 μ L didapatkan dari hasil sentrifuge darah tikus *sprague Dawley* yang diambil dari vena orbital pada hari ke 3 menggunakan *ELISA kit Rat IL-6* dengan satuan ng/L. Skala : Rasio

c. VEGF

VEGF adalah salah satu *growth factor* yang berperan dalam proses angiogenesis. VEGF pada penelitian ini diambil dari jaringan kulit punggung tikus jantan galur *sprague dawley* pada hari ke 7 yang telah diberi luka bakar derajat II yang dilakukan dengan pengecatan IHC. Skala : Rasio

d. Jumlah Kolagen

Jumlah kolagen pada penelitian ini diambil dari jaringan kulit punggung tikus jantan galur *sprague dawley* pada hari ke 7 yang telah diberi luka bakar derajat II yang dilakukan dengan pengecatan Pengecatan *Sirius Red*. Skala : Rasio

4.4 Instrumen dan Bahan Penelitian

4.4.1 Instrumen Penelitian

Kandang tikus dengan tempat pakan dengan ukuran P: 40 cm, L: 30 cm, T: 30 cm, Timbangan tikus “*Nigushi Scale*”, Sarung tangan, pipet tetes, tabung *ependorf*, spektrofotometer, mikropipet, *ELISA reader*, alat pencukur, alkohol swab 70%, ketamin 10%, *sput* dan *needle*, plat lingkaran *stainless steel* dan 2 cm, labu erlenmeyer, pemanas, *notch heater* (*COD reactor HACH®*), dan termometer.

4.4.2 Bahan Penelitian

- a. Ekstrak Kulit Delima
- b. *Aquadest*
- c. Reagen Kit IL-6
- d. Pengecatan untuk VEGF dan Kolagen

4.5 Cara Penelitian

4.5.1 Cara Persiapan Sebelum Perlakuan

- a. Sampel penelitian yaitu hewan coba harus masuk dalam kriteria inklusi, diambil secara acak sederhana sebanyak 24 ekor dengan rincian terdapat 4 kelompok dengan jumlah masing-masing sampel tiap kelompoknya adalah 6 ekor, terdiri dari kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan, kemudian diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari.
- b. Sampel sebanyak 24 ekor tikus jantan galur *sprague dawley* diaklimatisasi di laboratorium PSPG hewan coba Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- c. Hewan coba diberikan pakan standar terdiri dari protein 20-25%, pati 45-55%, lemak 10-12%, dan serat kasar 4% serta minum air putih yang sama setiap hari.

4.5.2 Cara Pemberian dan Pembuatan Ekstrak Kulit Delima

Ektrak kulit delima dalam bentuk serbuk didapatkan dari merek *Herbilogy Pomegranate Peel Extract Powder* yang sudah terstandarisasi. Serbuk ekstrak kulit delima dicampur pelarut aquades dan diaduk dengan bantuan magnet stirrer sampai larut. Pembuatan dosis ekstrak kulit delima 54 mg/200 gr BB, 108 mg/200 gr BB, dan 162 mg/200 gr BB didapatkan dari konversi dosis dari manusia ke tikus diberikan secara peroral (sonde) 6 hari.

4.5.3 Cara Pemberian luka Bakar Derajat II

Sebelum membuat luka pada sampel. Pastikan agar tangan dan alat-alat yang digunakan telah steril. Cuci tangan dengan bersih kemudian kenakan sarung tangan. Tikus dianestesi pada area yang akan dibuat luka bakar dengan dosis 0,2 cc lidokain dalam 2 cc aquades. Setelah tikus dibius, siapkan plat bulat *stainless steel* berdiameter 2 cm yang dipanaskan menggunakan pemanas hingga suhunya 85°C. Plat tersebut kemudian ditempelkan pada kulit yang telah dicukur sebelumnya selama 5 detik.⁵⁰

4.5.4 Pembuatan Preparat

Pembuatan sediaan histologis dilakukan dalam 4 tahapan, yaitu tahap fiksasi, dehidrasi, *clearing*, dan *embedding*. Jaringan kulit hasil biopsi kulit tikus masing-masing dengan diameter 5 mm dan kedalaman sampai jaringan subkutan diperlakukan mengikuti tahapan tersebut. Pada tahap fiksasi, kulit hasil biopsi direndam dalam formalin bufer fosfat 10% selama 24 jam kemudian dilakukan *triming* bagian jaringan yang akan diambil. Selanjutnya, dalam tahap dehidrasi jaringan tersebut direndam dalam alkohol bertingkat, berturut turut 50%, 70%, 90%, 96%, dan 100% masing masing 2 kali selama 2 jam. Pada tahap *clearing*, jaringan yang telah didehidrasi dimasukkan ke *clearing agent* (*xylene*) selama 24 jam sampai warnanya berubah menjadi transparan. Pada tahap *embedding*, jaringan diinfiltrasi sebanyak 2 kali masing-masing selama 1 jam. Jaringan dimasukkan ke dalam parafin murni cair bersuhu 60° C, kemudian jaringan ditanam ke dalam parafin cair dan dibiarkan membentuk blok yang memakan waktu selama 1 hari agar mudah diiris

dengan mikrotom. Pemotongan dilakukan dengan menggunakan mikrotom rotari dengan tebal 5 mikrometer secara seri dan diambil irisan ke-5, 10, 15 untuk selanjutnya dilakukan penempelan pada gelas objek. Preparat tersebut harus diinkubasi pada suhu 60°C selama dua jam sebelum digunakan.

4.5.5 Cara Pembuatan Preparat Imunohistokimia (IHC) pada VEGF

Prosedur Pembuatan Preparat Imunohistokimia VEGF pertama jaringan diblok parafin dipotong dengan ketebalan 3mikron. diletakkan diatas obyek glass Poly L-Lysin (Biogear). Kemudian obyek glass diletakkan pada inkubator suhu 45 derajat C ,biarkan semalam. Dilakukan diparafinisasi menggunakan larutan xylene (Merck-Millipore, Australia), Kemudian dilakukan proses rehidrasi dengan merendam *slide* kedalam etanol absolut 1, absolut 2, etanol 90%, etanol 80%, etanol 70%, etanol 70% (Merck-Millipore, Australia) masing masing selama 3 menit, kemudian dicuci pada air mengalir selama 5 menit, selanjutnya direndam akuades selama 5 menit. Proses selanjutnya yaitu *Antigen retrieval* dengan merendam slide dalam *citrate buffer* 1x pH 6,5 dan masukkan dalam Decloaking Chamber (Biogear) selama 30 menit pada suhu 90°C slide dikeluarkan dan didiamkan hingga mencapai suhu ruang (± 30 menit).

Selanjutnya *slide* dicuci dengan PBS 1x selama 5 menit sebanyak 3 kali. Kemudian dilakukan blocking peroksidase endogen dengan 3% H₂O₂ selama 5 menit, kemudian *slide dicuci* dengan PBS 1x selama 5 menit sebanyak 3 kali. Kemudian dilakukan *blocking background* dengan *meneteskan* larutan *Background Sniper* (Starr Trek Universal-HRP Detection

Kit) pada jaringan per *slide* dan diinkubasi selama 20 menit, selanjutnya *slide* *dikeringkan dengan* menggunakan tisu pada permukaan bawahnya dan sekitar jaringan tanpa merusak jaringan dan ditambahkan antibodi primer *sebanyak* 70-100 μL antibodi VEGF (Abcam, USA) kemudian tutup *humidity chamber* dan disimpan dalam kulkas 4°C *overnight*.

Ambil *slide* sampel dari kulkas 4°C dan diamkan pada suhu ruang selama ± 30 menit hingga mencapai suhu ruang, kemudian cuci slide menggunakan PBS 1x sebanyak 3 kali selama 5 menit, bersihkan jaringan dan tetesi secondary antibody Trekkie Universal Link (Starr Trek Universal-HRP Detection Kit) kemudian inkubasi selama 60 menit pada suhu ruang, cuci slide menggunakan PBS 1x sebanyak 3 kali selama 5 menit, kemudian tetesi TrekAvidin-HRP Label (Starr Trek Universal-HRP Detection Kit) inkubasi selama 45 menit pada suhu ruang, cuci slide menggunakan PBS 1x sebanyak 3 kali selama 5 menit, kemudian tetesi DAB 1:400 (1 μL Betazoid DAB Chromogen ditambahkan 400 μL Betazoid DAB Substrat) inkubasi 3 menit dalam ruangan gelap, cuci slide menggunakan PBS 1x sebanyak 3 kali selama 5 menit, kemudian lakukan counterstaining dengan mencelupkan dalam Mayer Hematoksilin (Bio-Optica Milano S.p.A) selama 3 menit, cuci slide menggunakan air mengalir selama 5 menit. Selanjutnya lakukan dehidrasi dengan mencelupkan *slide* sampel pada rak *staining* logam kedalam etanol 70%, etanol 80%, etanol 96%, etanol absolut 1, absolut 2, masing masing selama 3 menit, selanjutnya proses clearing dengan mencelupkan slide

pada xylene 1, 2 dan 3 masing masing selama 5 menit, kemudian mounting jaringan dengan entellan (*Sigma-Aldrich*, MO, USA).

4.5.6 Cara Pewarnaan Sirius Red untuk Kolagen

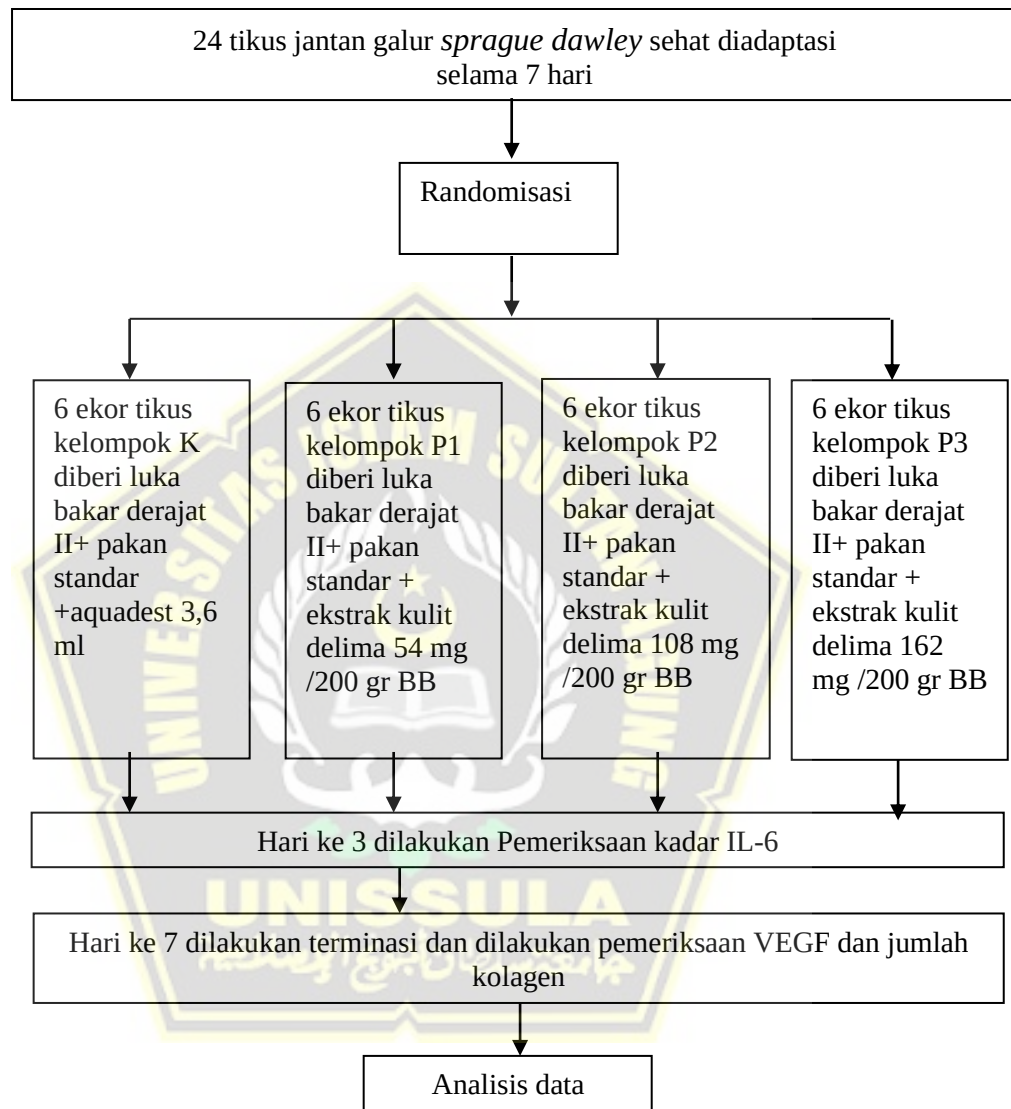
- a. Sebelum dilakukan pengecatan, slide melalui proses deparafinisasi dan rehidrasi meliputi perendaman dalam larutan xylene 2 x 5 menit, etanol 100% selama 2 menit, etanol 96% 2 x 2 menit, etanol 70% selama 2 menit dan aquadest selama 2 menit.
- b. Selanjutnya dilakukan pewarnaan inti sel dengan Hematoxilin Gill selama 10 menit dan dicuci selama 10 menit dengan air mengalir.
- c. Dilakukan pewarnaan dengan picro Sirius Red selama 1 jam yang bertujuan memberikan pewarnaan mendekati seimbang.
- d. Tahap selanjutnya dilakukan pencucian dengan air asam sebanyak 2 kali.
- e. Air yang berlebihan selanjutnya dihilangkan secara fisik dengan menggoyang secara perlahan.
- f. Dehidrasi dalam etanol 70% selama 10 detik, etanol 96% 2x 10 detik, etanol 100% selama 10 detik dan xylene 2 x 2 menit, keringkan selama 2 jam dalam suhu ruang, lalu mounting pada medium berbasis xylene (DPX).

4.5.7 Pengamatan Hasil dan Perhitungan

VEGF dan Jumlah kolagen dihitung dengan metode analisis cepat digital, setiap sediaan preparat difoto dengan menggunakan kamera LC evolution dan fotomikroskop Olympus Bx51 dengan pembesaran objektif 400 kali,, masing-masing preparete difoto 3 kali disimpan dalam format JPEG

analisis ekspresi area diambil rata rata dengan perangkat lunak ImageJ 1.52a
(National Institute of Health, USA).

4.5.8 Alur Penelitian



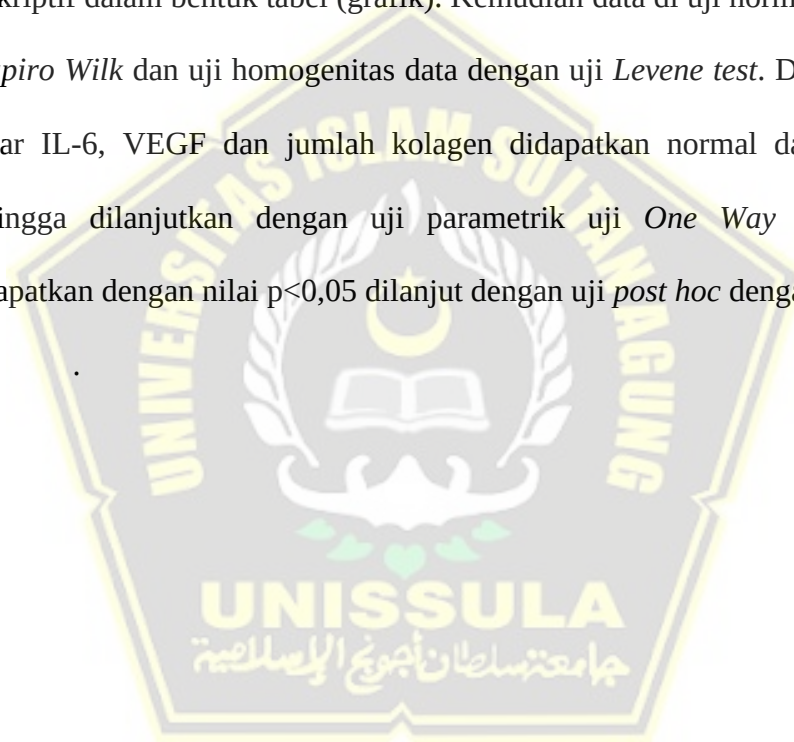
4.6 Tempat dan Waktu Penelitian

- a. Penelitian menggunakan hewan coba tikus dilakukan di Laboratorium PSPG UGM pada bulan Januari 2022.

- b. Pemeriksaan kadar IL-6 dilakukan di Laboratorium PSPG UGM pada bulan Januari 2022.
- c. Pemeriksaan VEGF, jumlah kolagen dilakukan di Laboratorium SSCR UNISSULA pada bulan Januari – Februari 2022.

4.7 Analisis Data

Data rerata kadar IL-6, VEGF dan jumlah kolagen disajikan secara deskriptif dalam bentuk tabel (grafik). Kemudian data di uji normalitas dengan *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas data dengan uji *Levene test*. Distribusi data kadar IL-6, VEGF dan jumlah kolagen didapatkan normal dan homogen, sehingga dilanjutkan dengan uji parametrik uji *One Way Anova* yang didapatkan dengan nilai $p < 0,05$ dilanjut dengan uji *post hoc* dengan uji *Tukey*.



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian pengaruh pemberian ekstrak kulit delima secara oral terhadap kadar *interleukin-6* (IL-6), VEGF dan jumlah kolagen pada tikus jantan galur *Sprague Dawley* yang diberi luka bakar derajat II telah dilakukan selama 7 hari. Hasil penelitian tersebut tertera pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil analisis rerata kadar IL-6, VEGF, dan Jumlah Kolagen

Variabel	Kelompok				Sig.(p)
	K	P1	P2	P3	
	N=6 Mean	N=6 Mean	N=6 Mean	N=6 Mean	
Kadar IL-6	79.03	54.99	42.48	40.49	
Std.deviasi	0.96	0.81	0.51	0.59	
Shapiro Wilk	0.772*	0.869*	0.804*	0.988*	
Levene Test					0.352**
One Way Anova					0.000***
VEGF	13.69	17.47	19.00	18.27	
Std.deviasi	2.13	3.25	3.48	2.34	
Shapiro Wilk	0.741*	0.799*	0.675*	0.935*	
Levene Test					0.486**
One Way Anova					0.020***
Jumlah Kolagen	38.80	50.32	55.21	58.41	
Std.deviasi	3.20	7.21	4.88	2.67	
Shapiro Wilk	0.270*	0.115*	0.767*	0.622*	
Levene Test					0.109**
One Way Anova					0.000***
Keterangan: *Normal $p>0,05$ **Homogen $p>0,05$ ***Signifikan $p<0,05$					

Tabel 5.1 menunjukkan bahwa rerata kadar IL-6 terendah yaitu pada kelompok perlakuan ketiga (P3) dengan pemberian ekstrak kulit delima dosis 162 mg/200 gr BB, kemudian berturut-turut diikuti oleh kelompok perlakuan

kedua (P2) dengan pemberian ekstrak kulit delima dosis 108 mg/200 gr BB dan kelompok perlakuan pertama (P1) dengan pemberian ekstrak kulit delima dosis 54 mg/200 gr BB. Kelompok kontrol (K) dengan pemberian aquades memperoleh rerata kadar IL-6 yang paling tinggi. Seluruh kelompok kadar IL-6 berdasarkan uji *shapiro wilk* menunjukkan berdistribusi normal dengan ($p>0,05$) dan uji homogenitas dengan menggunakan *levane test* hasilnya homogen nilai p -value 0.352 ($p>0,05$) maka analisis data menggunakan uji parametrik *One Way Anova*. Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ($p=0,000$).

Rerata kadar VEGF tertinggi pada tabel 5.1 yaitu pada kelompok perlakuan kedua (P2) dengan pemberian ekstrak kulit delima dosis 108 mg/200 gr BB, kemudian berturut-turut diikuti oleh kelompok perlakuan ketiga (P3) dengan pemberian ekstrak kulit delima dosis 162 mg/200 gr BB dan kelompok perlakuan pertama (P1) dengan pemberian ekstrak kulit delima dosis 54 mg/200 gr BB. Kelompok kontrol (K) dengan pemberian aquades memperoleh rerata kadar VEGF yang paling rendah. Seluruh kelompok kadar VEGF berdasarkan uji *shapiro wilk* menunjukkan berdistribusi normal ($p>0,05$) dan uji homogenitas dengan menggunakan *levane test* hasilnya homogen ($p=0,486$) maka analisis data menggunakan uji parametrik *One Way Anova*. Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ($p=0,020$).

Rerata jumlah kolagen tertinggi pada kelompok perlakuan ketiga (P3) dengan pemberian ekstrak kulit delima dosis 162 mg/200 gr BB,

kemudian berturut-turut diikuti oleh kelompok perlakuan kedua (P2) dengan pemberian ekstrak kulit delima dosis 108 mg/200 gr BB dan kelompok perlakuan pertama (P1) pemberian ekstrak kulit delima dosis 54 mg/200 gr BB. Kelompok kontrol (K) dengan pemberian aquades memperoleh rerata jumlah kolagen yang paling rendah. Seluruh kelompok jumlah kolagen berdasarkan uji *shapiro wilk* menunjukkan berdistribusi normal ($p>0,05$) dan uji homogenitas dengan menggunakan *levane test* hasilnya homogen (0.109) maka analisis data menggunakan uji parametrik *One Way Anova*. Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ($p=0.000$).

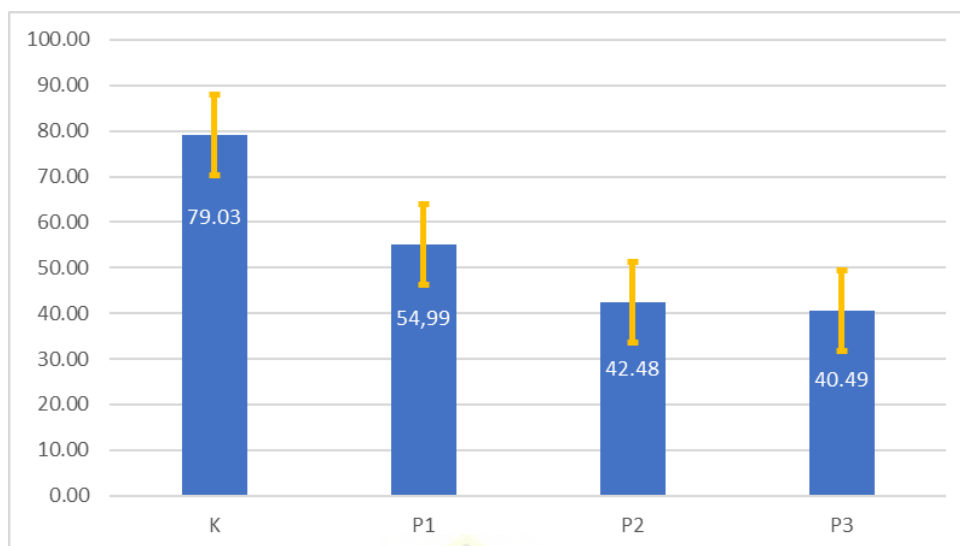
5.1.1 Kadar IL-6

Perbedaan kadar IL-6 antar 2 kelompok diketahui dengan uji *post hoc* menggunakan Uji *Tukey* seperti yang disajikan di tabel 5.2.

Tabel 5.2 Perbedaan Kadar IL-6 Antar 2 Kelompok

Kelompok	<i>p-Value</i>
K vs P1	0.000*
K vs P2	0.000*
K vs P3	0.000*
P1 vs P2	0.000*
P1 vs P3	0.000*
P2 vs P3	0.001*

*Uji *Tukey* dengan nilai signifikan $p<0.05$



Gambar 5.1 Grafik Rerata Kadar IL-6

Hasil uji *Tukey* pada tabel 5.2 menunjukkan kadar IL-6 pada kelompok kontrol (K) terdapat perbedaan signifikan terhadap kelompok perlakuan pertama (P1), kelompok perlakuan kedua (P2), dan kelompok perlakuan ketiga (P3) dengan nilai *p* value $p=0.000$ ($p<0.05$). Hasil pada kelompok perlakuan pertama (P1) terdapat perbedaan signifikan terhadap kelompok perlakuan kedua (P2) ($p=0.000$), kelompok perlakuan ketiga (P3) ($p=0.000$). Kelompok perlakuan kedua (P2) terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kelompok perlakuan ketiga (P3) ($p=0.001$). Berdasarkan data diatas dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kulit delima dengan dosis 54 mg/200 gr BB, 108 mg/200 gr BB, 162 mg/200 gr BB berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan kadar IL-6 pada tikus jantan galur *sprague dawley* yang diberi luka bakar derajat II sehingga pernyataan hipotesis diterima.

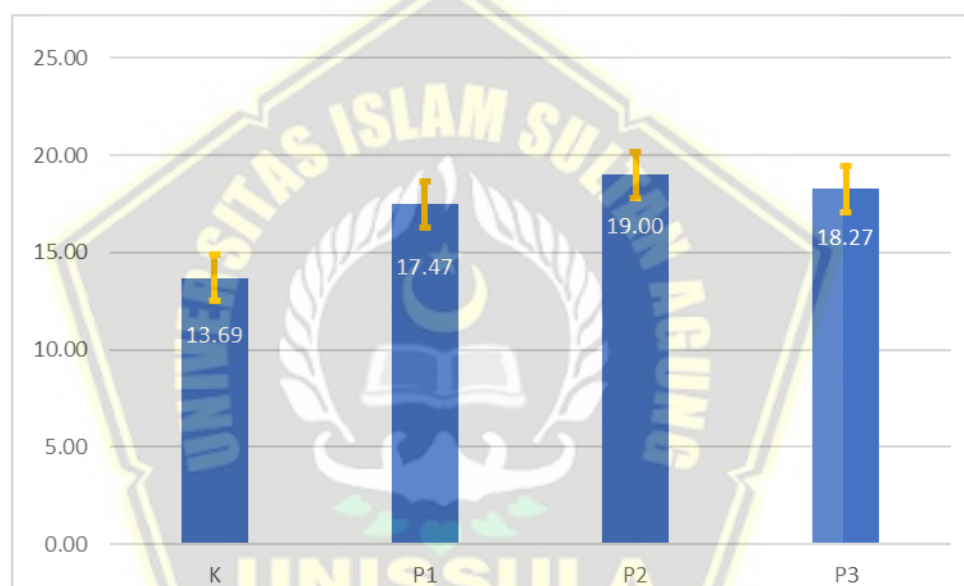
5.1.2 VEGF

Perbedaan VEGF antar 2 kelompok diketahui dengan uji *post hoc* menggunakan Uji *Tukey* seperti yang disajikan di tabel 5.3.

Tabel 5.3 Perbedaan Kadar VEGF Antar 2 Kelompok

Kelompok	<i>p-Value</i>
K vs P1	0.134
K vs P2	0.021*
K vs P3	0.052
P1 vs P2	0.789
P1 vs P3	0.961
P2 vs P3	0.970

*Uji *Tukey* dengan nilai signifikan $p < 0.05$

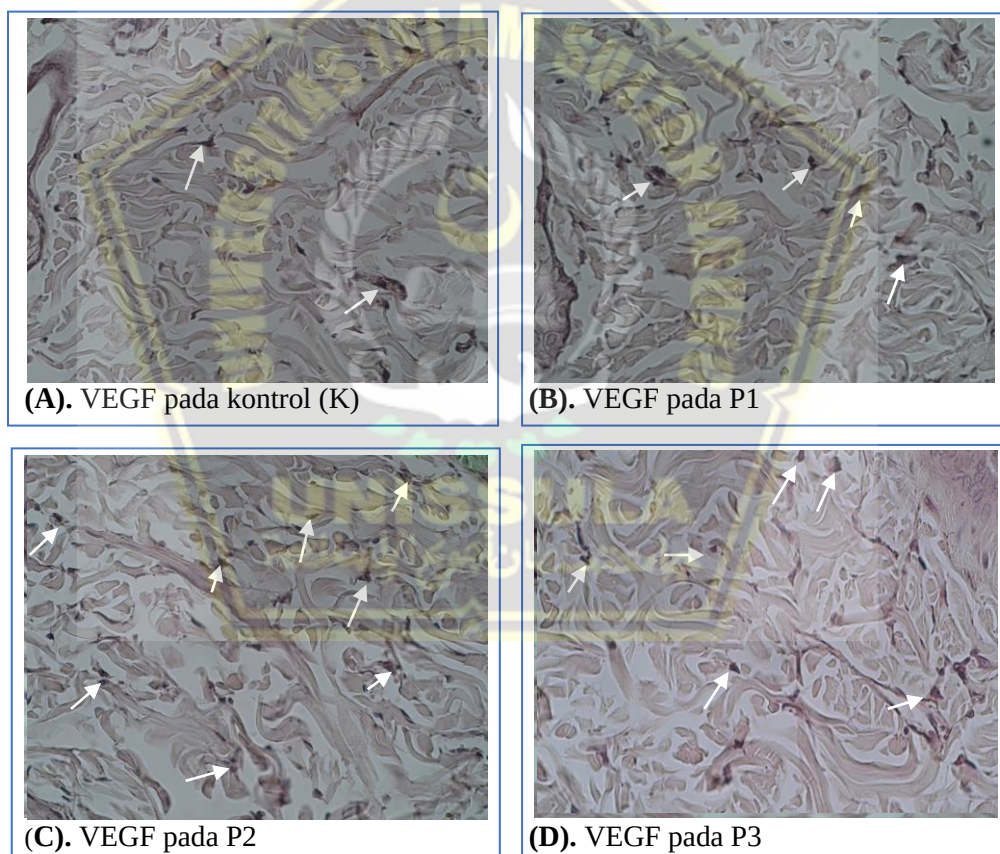


Gambar 5.2 Grafik Rerata Kadar VEGF

Hasil uji *Tukey* pada tabel 5.3 menunjukkan kadar VEGF pada kelompok kontrol (K) tidak terdapat perbedaan signifikan terhadap kelompok perlakuan pertama (P1) ($p=0.134$), kelompok perlakuan ketiga (P3) ($p=0.052$), dan kelompok kontrol (K) terdapat perbedaan signifikan terhadap kelompok perlakuan kedua (P2) ($p < 0.05$). Hasil pada kelompok perlakuan pertama (P1) tidak terdapat perbedaan signifikan terhadap kelompok perlakuan kedua (P2)

($p=0.789$), kelompok perlakuan ketiga (P3) ($p=0.961$). Kelompok perlakuan kedua (P2) tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kelompok perlakuan ketiga (P3) ($p=0.970$). Berdasarkan data diatas dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kulit delima dengan dosis 54 mg/200 gr BB, 108 mg/200 gr BB, 162 mg/200 gr BB berpengaruh secara signifikan terhadap peningkatan kadar VEGF pada tikus jantan galur *sprague dawley* yang diberi luka bakar derajat II sehingga pernyataan hipotesis diterima.

Gambaran histopatologi VEGF, jaringan kulit tikus jantan galur *Sprague Dawley* hasil pengecatan IHC disajikan pada gambar 5.3.



Gambar 5.3 Perbedaan VEGF kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada jaringan dermis kulit *Sprague Dawley* jantan dengan pengecatan IHC, menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400x. Tanda (panah) positif VEGF warna coklat.

Ekspresi VEGF dengan pewarnaan imunohistokimia ditunjukkan dengan warna coklat yang terakumulasi pada sitoplasma yang berdifusi keluar sel. Ekspresi VEGF dihitung dengan banyaknya sitoplasma pada sel yang tercat positif pada 3 lapang pandang perbesaran 400x pada fotomikroskop Olympus Bx51 dan analisis ekspresi area diambil rata rata dengan perangkat lunak ImageJ 1.52a (*National Institute of Health, USA*). Pada kelompok kontrol (K) tampak jumlahnya lebih sedikit, sedangkan pada kelompok pertama (P1) dengan pemberian ekstrak kulit delima dengan dosis 54 mg/200 gr BB, kelompok perlakuan kedua (P2) dengan pemberian ekstrak kulit delima dengan dosis 108 mg/200 gr BB dan kelompok perlakuan ketiga (P3) dengan pemberian ekstrak kulit delima dengan dosis 162 mg/200 gr BB segera setelah dipapar luka bakar derajat II, tampak lebih banyak.

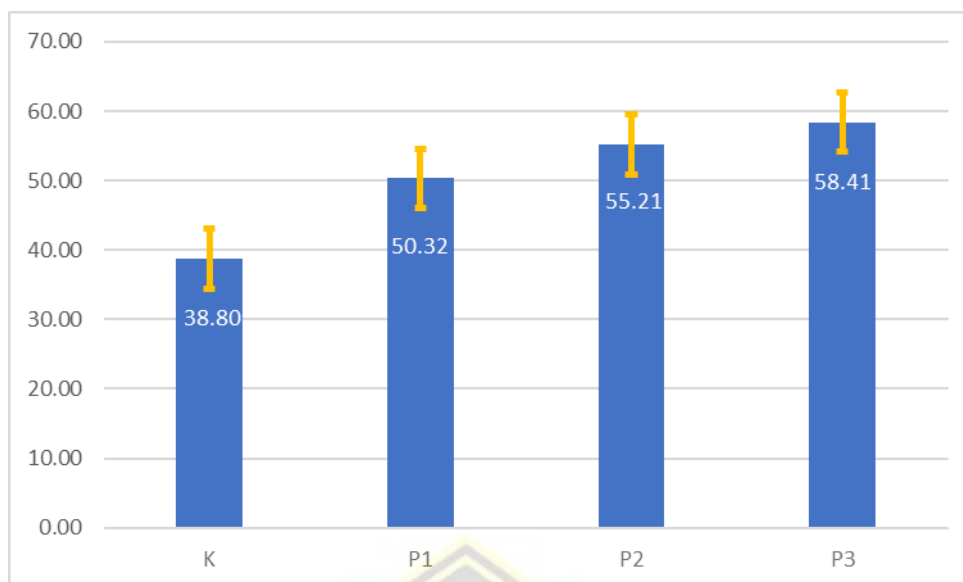
5.1.3 Jumlah Kolagen

Perbedaan VEGF antar 2 kelompok diketahui dengan uji *post hoc* menggunakan Uji *Tukey* seperti yang disajikan di tabel 5.4.

Tabel 5.4 Perbedaan Jumlah Kolagen Antar 2 Kelompok

Kelompok	<i>p-Value</i>
K vs P1	0.003*
K vs P2	0.000*
K vs P3	0.000*
P1 vs P2	0.322
P1 vs P3	0.040*
P2 vs P3	0.665

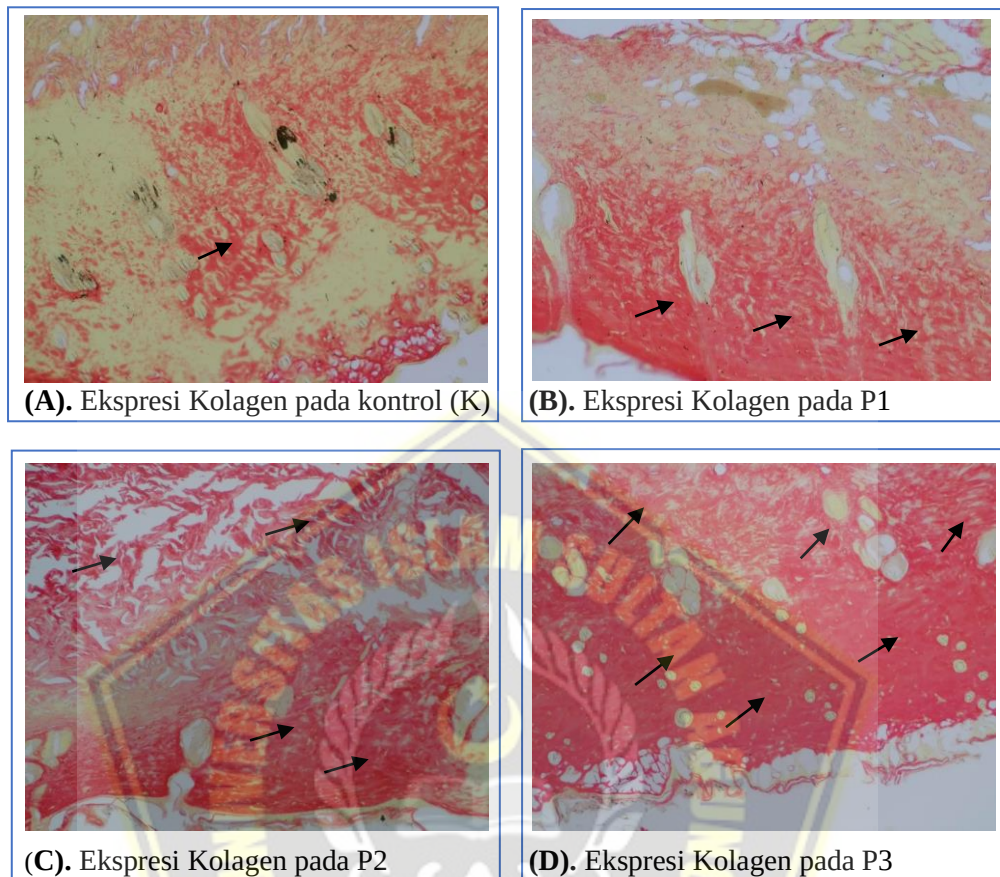
*Uji *Tukey* dengan nilai signifikan $p < 0.05$



Gambar 5.4 Grafik Rerata Jumlah Kolagen

Hasil uji *Tukey* pada tabel 5.4 menunjukkan jumlah kolagen pada kelompok kontrol (K) terdapat perbedaan signifikan terhadap kelompok perlakuan pertama (P1) ($p=0.003$), kelompok perlakuan kedua (P2) ($p=0.000$), dan kelompok perlakuan ketiga (P3) (0.000). Hasil pada kelompok perlakuan pertama (P1) tidak terdapat perbedaan signifikan terhadap kelompok perlakuan kedua (P2) ($p=0.322$) dan terdapat perbedaan signifikan terhadap kelompok perlakuan ketiga (P3) dengan nilai $p=0,040$ ($p<0.05$). Kelompok perlakuan kedua (P2) tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kelompok perlakuan ketiga (P3) ($p=0.665$). Berdasarkan data diatas dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kulit delima dengan dosis 54 mg/200 gr BB, 108 mg/200 gr BB, dan 162 mg/200 gr BB berpengaruh secara signifikan terhadap peningkatan jumlah kolagen pada tikus jantan galur *sprague dawley* yang diberi luka bakar derajat II sehingga pernyataan hipotesis diterima.

Hasil pengecatan *sirius red* jaringan dermis kulit *Sprague Dawley* jantan terhadap jumlah kolagen penelitian ini disajikan pada gambar 5.5.



Gambar 5.5 Perbedaan ekspresi kolagen kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada jaringan dermis kulit *Sprague Dawley* jantan dengan pengecatan *Sirius Red*, menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400x. Tanda panah ekspresi positif kolagen warna merah terang.

Jumlah kolagen dermis adalah persentase pixel jaringan kolagen berupa jaringan berwarna merah terang dengan pewarnaan *Sirius red* dibandingkan dengan pixel seluruh jaringan yang tampak pada foto sediaan histologis. Penilaian dilakukan pada foto dan perhitungan dengan analisis digital menggunakan piranti lunak ImageJ 1.52a (*National Institute of Health, USA*), selanjutnya dihitung pada 3 lapangan pandang pada pembesaran 400x,

diambil rata rata. Tampak pada gambar kelompok kontrol (K) lebih sedikit dibanding dengan kelompok perlakuan pertama (P1), dengan pemberian ekstrak kulit delima dengan dosis 54 mg/200 gr BB, kelompok perlakuan kedua (P2) dengan pemberian ekstrak kulit delima dengan dosis 108 mg/200 gr BB dan kelompok perlakuan ketiga (P3) dengan pemberian ekstrak kulit delima dengan dosis 162 mg/200 gr BB.

5.2 Pembahasan

Luka bakar merupakan kerusakan integritas kulit atau jaringan organik lainnya yang disebabkan oleh trauma akut.²⁸ Luka bakar derajat II adalah luka bakar yang meliputi destruksi epidermis serta lapisan atas dermis dan cedera pada bagian dermis yang lebih dalam. Luka tersebut terasa nyeri, tampak eritema atau kemerahan dan mengalami eksudasi cairan.⁵¹ Kelompok tikus yang diberi perlakuan luka bakar derajat II adalah K, P1, P2 dan P3.

Hasil pemeriksaan kadar IL-6 pada kelompok kontrol (K) yang diberi luka bakar derajat II dengan pemberian aquades mengalami peningkatan yang signifikan dibanding dengan kelompok yang diberi ekstrak kulit delima dengan dosis 54 mg/200 gr BB (P1), 108 mg/200 gr BB (P2), dan 162 mg/200 gr BB (P3) seperti pada tabel 5.1. Interleukin 6 (IL-6) merupakan sitokin yang berperan dalam fase inflamasi awal. Sumber utama dari IL-6 berasal dari berbagai jenis sel seperti makrofag, fibroblas, keratinosit dan sel endotel. Produksi berlebihan dari sitokin IL-6 menandakan terjadinya inflamasi. Sitokin IL-6 memiliki fungsi dalam pengaturan sistem imun seperti dalam

diferensiasi neutrofil dan monosit serta mempengaruhi kerja sitokin lain dan kemokin yang bekerja pada fase inflamasi hingga proliferasi.⁵²

Penurunan kadar IL-6 pada kelompok P3 yang diberi luka bakar derajat II dan pemberian ekstrak kulit delima dengan dosis 162 mg/200 gr BB mengalami perbedaan yang signifikan dengan kelompok perlakuan dengan dosis 54 mg/200 gr BB (P1) dan kelompok perlakuan dengan dosis 108 mg/200 gr BB (P2) seperti pada tabel 5.1. Hal ini disebabkan karena proses inflamasi yang bekerja optimal sehingga respon inflamasi tidak berlangsung lebih lama. Pada respon inflamasi yang berkepanjangan, makrofag akan terus melepaskan IL-6 yang mempengaruhi inflamasi melalui penarikan sel-sel radang sehingga akan terus terjadi akumulasi sel radang dalam mengeliminasi patogen. Sehingga dengan rendahnya kadar IL-6 ini dapat menandakan bahwa luka telah memasuki fase inflamasi akhir dan segera menuju fase proliferasi awal.⁵² Hal ini terjadi karena manfaat ekstrak kulit delima antara lain antioksidan, antiinflamasi, dan dapat berfungsi meningkatkan sistem imun. Penelitian yang dilakukan Almahita (2013) membuktikan bahwa ekstrak aqueous kulit delima peroral dapat menghambat peningkatan jumlah makrofag dari fase inflamasi ke fase proliferasi sehingga proses inflamasi tidak terus berjalan pada proses penyembuhan luka bakar.⁴ Selain itu, pada penelitian yang sama terbukti bahwa aktivitas antiinflamasi yang dimiliki oleh *Ellagic Acid* tidak sekuat ekstrak buah delima dalam menghambat peningkatan ekspresi interleukin-6 (IL-6) dan transforming growth factor-beta 1 (TGF- β 1) akibat obstruksi bilier.⁵³

Hasil pemeriksaan VEGF pada kelompok kontrol (K) yang diberi luka bakar derajat II dengan pemberian aquades mengalami penurunan yang signifikan dibanding dengan kelompok yang diberi ekstrak kulit delima dengan dosis 54 mg/200 gr BB (P1), 108 mg/200 gr BB (P2), dan 162 mg/200 gr BB (P3) seperti pada tabel 5.1. *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) berperan untuk meningkatkan migrasi sel endotel, proliferasi, dan permeabilitas pembuluh darah. VEGF mengikat secara khusus dan larut terhadap fibrinogen dengan afinitas tinggi, mempertahankan kapasitasnya untuk mendukung terjadinya proliferasi sel endotel saat terikat baik maupun larut dengan permukaan fibrinogen yang imobilisasi. Interaksi ini memfasilitasi lokalisasi dan aktivitas mitogenik VEGF pada jaringan cedera.⁵⁴

Kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 dengan pemberian ekstrak kulit delima yang diberi luka bakar derajat II mengalami peningkatan VEGF seperti pada tabel 5.1. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak kulit delima baik digunakan untuk peningkatan ekspresi VEGF dalam penyembuhan luka, sebab selain flavonoid dan polifenol, ekstrak kulit delima juga memiliki *Ellagic Acid* yang dapat merangsang proliferasi pada proses penyembuhan luka.⁴ Menurut Pusparatri (2018) Gel kulit delima (*Punica granatum L.*) mengandung flavonoid dan tanin yang di dalamnya terdapat *ellagic acid* yang dapat merangsang proliferasi fibroblas pada proses penyembuhan luka.⁵⁵ Ekspresi VEGF pada kelompok P2 terkesan lebih tinggi daripada Kelompok P3 tetapi pada Uji *Post Hoc* perbedaannya tidak signifikan.

Hasil pemeriksaan jumlah kolagen pada kelompok kontrol (K) yang diberi luka bakar derajat II dengan pemberian aquades mengalami penurunan yang signifikan dibanding dengan kelompok yang diberi ekstrak kulit delima dengan dosis 54 mg/ 200gr BB (P1), 108 mg/ 200gr BB (P2), dan 162 mg/ 200gr BB (P3) seperti pada tabel 5.1. Hal ini menunjukkan adanya kerusakan pada lapisan dermis kulit terdapat keropeng atau eskar, epidermis kulit mengalami hipertropi yang disebabkan oleh proliferasi sel epitel, dan pada lapisan dermis terlihat kolagen telah terbentuk namun tidak setebal yang terlihat pada kontrol negatif. Menurut Han et al (2005), keropeng atau eskar yang terbentuk pada area kulit luka bakar terbentuk atas fibrin dan platelet dari respon hemostasis serta infiltrasi sel mononuklear serta jaringan nekrotik.⁵⁶

Peningkatan jumlah kolagen pada kelompok P2 yang diberi luka bakar derajat II dan pemberian ekstrak kulit delima dengan dosis 108 mg/ 200gr BB mengalami perbedaan yang tidak signifikan dengan kelompok perlakuan dengan dosis 54 mg/ 200gr BB (P1) dan signifikan kelompok perlakuan dengan dosis 162 mg/ 200gr BB (P3) seperti pada tabel 5.1. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit delima secara peroral berperan dalam meningkatkan sintesis kolagen. Kolagen yang berada didalam kulit berguna dalam proses penyembuhan luka sehingga ketika kulit mengalami luka maka dapat pulih dengan sendirinya. Hal ini juga didukung dengan penelitian Shinde, et al (2020) yang menyatakan bahwa kulit delima mengandung aktivitas antioksidan karena kandungan fenolik nya. Contohnya seperti flavonoid dikaitkan dengan kemampuan antioksidasi, polifenol

ditemukan pada kulit delima misalnya tannin *ellagic*, *ellagic acid* dan asam galat. Kegunaan polifenol dan flavonoid berguna untuk antioksidan pada penyembuhan luka dan antimikroba.⁵⁷ Penelitian yang serupa Almahita (2013) yang melaporkan ekstrak aqueous kulit delima berperan dalam proliferasi fibroblas dan proses sintesis kolagen dengan menstimulasi sintesis prokolagen tipe I dan menghambat MMP-1, enzim pendegradasi kolagen.⁴

Adapun keterbatasan dari penelitian ini adalah bahwa proses penyembuhan luka pada umumnya dibagi atas beberapa fase yang masing-masing saling berkaitan yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan maturasi. Waktu penyembuhan luka memakan waktu hingga 25 hari namun penelitian ini hanya dilakukan selama 7 hari akibatnya efek penyembuhan jaringan yang diamati hanya masih sebagian sehingga perlu adanya penelitian yang bersifat *time series* untuk mengetahui durasi efek ekstrak kulit delima dalam penyembuhan luka bakar.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

6.1.1. Pemberian ekstrak kulit delima secara oral dengan dosis 54 mg/ 200gr BB, 108 mg/ 200gr BB, dan 162 mg/ 200gr BB dapat menurunkan kadar *Interleukin-6 (IL-6)*, pada tikus jantan galur *Sprague Dawley* yang diberi luka bakar derajat II.

6.1.2. Pemberian ekstrak kulit delima secara oral dengan dosis 54 mg/ 200gr BB, 108 mg/ 200gr BB, dan 162 mg/ 200gr BB meningkatkan VEGF dan meningkatkan jumlah kolagen pada tikus jantan galur *Sprague Dawley* yang diberi luka bakar derajat II.

6.1.3. Pemberian ekstrak kulit delima secara oral dengan dosis 54 mg/ 200gr BB, 108 mg/ 200gr BB, dan 162 mg/ 200gr BB meningkatkan jumlah kolagen pada tikus jantan galur *Sprague Dawley* yang diberi luka bakar derajat II.

6.2 Saran

Perlu adanya penelitian yang bersifat *time series* untuk durasi efek ekstrak kulit delima dalam penyembuhan luka bakar.

DAFTAR PUSTAKA

1. Scapin S, Echevarría-Guanilo ME, Boeira Fuculo Junior PR, Gonçalves N, Rocha PK, Coimbra R. Virtual Reality in the treatment of burn patients: A systematic review. *Burns*. 2018;44(6):1403-1416. doi:10.1016/j.burns.2017.11.002
2. Revilla G. Pengaruh Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Terhadap Sekresi VEGF pada Penyembuhan Luka Bakar Tikus. *J Kesehat Andalas*. 2018;6(3):702. doi:10.25077/jka.v6.i3.p702-706.2017
3. Wardhana A, Basuki A, Prameswara ADH, Rizkita DN, Andarie AA, Canintika AF. The epidemiology of burns in Indonesia's national referral burn center from 2013 to 2015. *Burn Open*. 2017;1(2):67-73. doi:10.1016/j.burnso.2017.08.002
4. Putri AC. Pengaruh Ekstrak Aqueous Kulit Delima (*Punica Granatum*) Peroral Terhadap Makrofag, Fibroblas Dan Kolagen Pada Penyembuhan Luka Bakar Tikus Putih. 2013.
5. Krisna AI, Widyaningrum I, Wahyuningsih D, et al. Systematic Literature Review : Pengaruh Polifenol Delima (*Punicagranatum L .*) Terhadap Kadar Interleukin-6 Pada Penyakit Yang Melibatkan Patofisiologi. *J Kedokt Komunitas*. 2021;6:1-12.
6. Soejanto AS. Pemberian Krim Ekstrak Metanolik Buah Delima Merah (*Punica granatum*) Menghambat Penurunan Jumlah Kolagen Dermis Kulit Mencit (*Mus guscus*) Yang *IJAAM (Indonesian J Anti-Aging Med*. 2017;(September). <https://ijaam-unud.org/ojs/index.php/ijaam/article/view/5>.
7. Puspitasari B. Pengaruh Ekstrak Etanol Biji Delima Merah (*Punica granatum L.*) 40% Terhadap Waktu Penyembuhan Luka Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar. 2019.
8. Lateef Z, Stuart G, Jones N, Mercer A, Fleming S, Wise L. The cutaneous inflammatory response to thermal burn injury in a Murine model. *Int J Mol Sci*. 2019;20(3). doi:10.3390/ijms20030538
9. Baratawidjaja KG RI. *Imunologi Dasar*. Jakarta: FKUI; 2014.
10. M E, A Q, Hidalgo. Interleukin-6, A Major Cytokine In The Central Nervous System. *Int J Biol Sci*. 2012;8(9):1254-1266. doi:10.7150/ijbs.4679.
11. Oky P, Tania A, Simamora D, et al. Kadar Interleukin 6 (Il-6) Sebagai Indikator Progresivitas Penyakit Reumatoid Arthritis (Ra). *Ilm Kedokt*. 2014;3:40-47.
12. Masfufatun M, Tania POA, Raharjo LH BA. Kadar IL-6 dan IL-10 Serum pada Tahapan Inflamasi di *Rattus norvegicus* yang terinfeksi *Candida albicans*. *J Kedokt Brawijaya*. 2018;30(1):19. doi:10.21776/ub.jkb.2018.030. 01.4.
13. Kang S, Tanaka T, Narazaki M KT. Targeting Interleukin-6 Signaling in Clinic. *Immunity*. 2019;50(4):1007-1023.
14. Wahyuniati N M. Peran Interleukin-10 Pada Infeksi Malaria. *Peran*

- Interleukin-10 Pada Infeksi Malar*. 2015;15(2):96-103.
15. Tanaka T, Narazaki M KT. IL-6 In Inflammation, Immunity, And Disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014;6(10). doi:10.1101/cshperspect.a016295
 16. Fagiani E, Christofori G. Angiopoietins in Angiogenesis. *Cancer Lett*. 2013;328(1):18-26. doi:10.1016/j.canlet.2012.08.018
 17. Frisca, Sardjono CT, Sandra F. ANGIOGENESIS : Patofisiologi dan Aplikasi Klinis. *JKM*. 2009;8(2):174-189.
 18. Melincovici CS, Boşca AB, Şuşman S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) – key factor in normal and pathological angiogenesis. *Rom J Morphol Embryol*. 2018;59(2):455-467.
 19. Shibuya M. Vascular endothelial growth factor and its receptor system: Physiological functions in angiogenesis and pathological roles in various diseases. *J Biochem*. 2013;153(1):13-19. doi:10.1093/jb/mvs136
 20. Shibuya M. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor (VEGFR) Signaling in Angiogenesis: A Crucial Target for Anti- and Pro-Angiogenic Therapies. *Genes and Cancer*. 2011;2(12):1097-1105. doi:10.1177/1947601911423031
 21. Comşa Ş, Cîmpean AM, Ceaşu R, Suciu C, Raica M. Correlations between vascular endothelial growth factor expression, microvascular density in tumor tissues and tnm staging in breast cancer. *Arch Biol Sci*. 2012;64(2):409-418. doi:10.2298/ABS1202409C
 22. Zachreini I, Lubis MND, Aman AK, Suprihati. Peran Reseptor Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Pada Konka Hipertrofi Disebabkan Oleh Rinitis Alergi. *Oto Rhino Laryngol Indones*. 2016;46(2):129. doi:10.32637/orli.v46i2.160
 23. Asparini RR. Peran Heparin Angiogenesis Epitelialisasi dan Penyembuhan Luka Bakar. *Saintika Med*. 2011;7(1):26-33.
 24. Sabirin IP, Maskoen AM, Hernowo BS. Peran Ekstrak Etanol Topikal Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L .) pada Penyembuhan Luka Ditinjau dari Imunoekspresi CD34 dan Kolagen pada Tikus Galur Wistar Role of Noni (*Morinda citrifolia* L .) Leaf Ethanolic Extract Topical Application on Wound Heal. *Maj Kedokt Bandung*. 2013;45(4):226-233.
 25. Ratnawati A, R DI, Supardi A. Sintesis dan Karakterisasi Kolagen dari Teripang-Kitosan sebagai Aplikasi Pembalut Luka. 2013.
 26. Richard Maynes. *Structure and Function of Collagen Types*. Elsevier; 2012.
 27. Saputra I. Rasio Serat Kolagen Tipe Iii/Tipe I Lebih Rendah Dan Kekuatan Tensile Lebih Tinggi Pada Kesembuhan Cedera Tendon Achilles. *PpsUnudAcId*. 2016. [http://www.pps.unud.ac.id/thesis/pdf_thesis/unud-1659-207130249-tesis final.pdf](http://www.pps.unud.ac.id/thesis/pdf_thesis/unud-1659-207130249-tesis%20final.pdf).
 28. Anggowarsito JL. Luka Bakar Sudut Pandang Dermatologi. *J Widya Med*. 2014;2(2):115-120. <http://journal.wima.ac.id/index.php/JWM/article/view/852>.
 29. Warby R, Maani C. *Burn Classification*. Treasure Island: StatPearls Publishing; 2019.

30. Sudarko FR. Efektivitas Ekstrak Etanol Biji Edamame (*glycine max l. merril*) Terhadap Kadar Hidroksiprolin Pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat II. 2018.
31. Hidayat T. Role of Topical Extract Aloe Vera gel in Deep Burn Wound Healing in Rat. *Media J Rekonstruksi Estet.* 2013;2(2).
32. Rusihana I. Pengalaman Ibu Dalam Merawat Anak Dengan Penanganan Pertama Luka Bakar. *Univ Muhammadiyah Malang.* 2019.
33. Said S, Taslim NA, Bahar B. *Gizi Dan Penyembuhan Luka.* Indonesia Academic Publishing; 2013.
34. Hernawati S. Ekstrak Buah Delima sebagai Alternatif Terapi Recurrent Aphthous Stomatitis (RAS). *Stomatognathic.* 2015;12(1).
35. Van Harling VN. Penentuan Kadar Asam Elagat Ekstrak Metanol Kulit Buah Dan Biji Buah Delima (*Punica granatum. L.*). *Soscied.* 2019;2(1):1-4. doi:10.32531/jsoscied.v1i2.147
36. Jannah H, Safnowandi. Identifikasi Jenis Tumbuhan Obat Tradisional di Kawasan Hutan Olat Cabe Desa Batu Bangka Kecamatan Moyo Hilir Kabupaten Sumbawa Besar. *J Ilm Biol.* 2018;6(2):145-172.
37. Hakim A. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Delima (*Punica Granatum L.*) Terhadap Keturunan Mencit (*Mus Musculus*) Yang Diberi Paparan Asap Rokok. *J Chem Inf Model.* 2021.
38. Gita RSD, Danuji S. Studi Keanekaragaman Tumbuhan Obat Yang Digunakan Dalam Pengobatan Tradisional Masyarakat Kabupaten Pamekasan. *Bioma J Biol dan Pembelajaran Biol.* 2021;6(1):1-12. doi:10.32528/bioma.v6i1.4817
39. Bahaudin I. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Delima (*Punica granatum L .*) Terhadap Gambaran Tubulus Seminiferus Mencit Jantan (*Mus musculus L .*) Yang Diberi Paparan Asap Rokok. *Univ Islam Negeri Raden Intan Lampung.* 2021.
40. Dewi BS, Safe'i R, Harianto SP, et al. "Biodiversitas Flora dan Fauna Universitas Lampung", (Yogyakarta:Plantaxia, 2017), hal 10. In: Winarno GD, ed. *Biodiversitas Flora Dan Fauna.* Yogyakarta: Plantaxia; 2017:1-90.
41. Widjaya RAl. Uji Antifertilitas Ekstrak Etanol 70% Biji Delima (*Punica granatum L*) Pada Tikus Jantan Strain Sprague-Dawley Secara In Vivo. 2012.
42. Tanggo VTIP. Pengaruh Pemberian Topikal Ekstrak Kulit Delima Pada Penyembuhan Luka Split Thickness Kulit Tikus. 2013.
43. Khairani TN, Rumanti RM, Manao A. Formulasi Sediaan Krim Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) sebagai Obat Luka Bakar pada Tikus Putih Jantan. 2020;4(2):53-58.
44. Aini FDQ, Widiyana AP, Wahyuningsih D. Studi Pustaka Sistematis: Pengaruh Polifenol Delima (*Punica Granatum L.*) Terhadap Kadar Prostaglandin E2 Dari Sel Makrofag Raw264.7. 2021;9(1).
45. Jurenka JS. Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum L.*): a review. *Altern Med Rev.* 2008;13(2):128-144.
46. Rummun N, Jhoti S, Ramsaha S, Bahorun T, Neergheen-Bhujun VS. Bioactivity of Nonedible Parts of *Punica granatum L.* *Int J Food Sci.*

- 2013;2013:12.
47. Fitri. Efektivitas Ekstrak Alga Merah (*Euchema Spinosum*) Terhadap Penyembuhan Luka: Kajian Literatur. 2020.
 48. Hernawati S, Rantam FA, Sudiana IK, Rahayu RP. Efek ekstrak buah delima (*Punica Granatum L*) terhadap ekspresi wild p53 pada sel ganas rongga mulut mencit strain swiss webster. *Dent J (Majalah Kedokt Gigi)*. 2013;46(3):148. doi:10.20473/j.djmk.v46.i3.p148-151
 49. Ferdian J, Wijayahadi N. Pengaruh Pemberian Ekstrak Rimpang Rumput Teki (*Cyperus Rotundus L.*) Terhadap Kuantitas Asi Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Betina. *Diponegoro Med J (Jurnal Kedokt Diponegoro)*. 2018;7(2):655-666.
 50. Lukiswanto BS, Miranti A, Sudjarwo SA, Primarizky H, Yuniarti WM. Evaluation of wound healing potential of pomegranate (*Punica granatum*) whole fruit extract on skin burn wound in rats (*Rattus norvegicus*). *J Adv Vet Anim Res*. 2019;6(2):202-207. doi:10.5455/javar.2019.f333
 51. Hendra A, Sumarno, Dewi D. Efek Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale Rosc .*) terhadap Penurunan Tanda Inflamasi Eritema pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Galur Wistar dengan Luka Bakar Derajat II. *Maj Kesehatan FKUB*. 2014;1(4):214-222.
 52. Rahman AFN. Perbedaan Efek Terapi Salep VCO (Virgin Coconut Oil) Dengan Sediaan Topikal Ekstrak Plasenta Terhadap Luka Bakar Derajat Ii-B Pada Tikus (*Rattus Norvegicus*) Ditinjau Dari Ekspresi Interleukin-6 (Il-6) Dan Jumlah Sel Neutrofil. 2019.
 53. Yuniarti WM, Handajani R, Kusumobroto HO, Sudiana K. Ekstrak Buah Delima Terstandar Menurunkan Derajat Fibrosis Hati pada Hewan Model Tikus Putih. *J Vet*. 2013;14(4):511-518.
 54. Aisyah S. Efek Pemberian Ekstrak Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata Miers*) Terhadap Peningkatan Ekspresi Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Pada Luka Bakar Derajat II B Tikus Galur Wistar. 2014.
 55. Pusparatri AP. Pengaruh Gel Kulit Delima (*Punica Granatum L.*) Terhadap Jumlah Fibroblas Pada Proses Penyembuhan Ulkus Traumatik Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Yang Diinduksi Panas. 2018.
 56. Fatmawati D. *Pengaruh Terapi Salep Ekstrak Daun Singkong (Manihot Esculenta) Terhadap Penurunan Kadar Malondialdehyde (MDA) Dan Histopatologi Kolagen Kulit Tikus Putih Jantan (Rattus Norvegicus) Dengan Luka Bakar Derajat II.*; 2018.
 57. Supia DR, Yuniartika W. Studi Literatur : Perawatan Luka Bakar Grade II Dengan Delima (Pomegranate). *12th Univ Res Colloquium 2020*. 2020:58-67.
 58. Mae Sri Hartati Wahyuningsih. Penghitungan Dosis Herbal. 2018:16-49.