

Efektivitas Ekstrak Etanol Biji Edamame (*Glycine max L. Merrill*) terhadap Jumlah Fibroblas Pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat II

*The Effectiveness of Edamame Seed (*Glycine max L. Merrill*) Ethanolic Extract to Fibroblast Count on Second Degree Burn Wound Healing*

Arifah Nur Hasanah¹, Ika Rahmawati Sutejo², Enny Suswati³

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Jember

²Laboratorium Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Jember

³Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Alamat email korespondensi ika.unej@gmail.com

ABSTRAK

Penyembuhan luka bakar terdiri dari 3 fase yaitu inflamasi, proliferasi dan *remodelling*. Stres oksidatif pada patogenesis luka bakar dapat mengganggu proliferasi fibroblas melalui hambatan TGF- β , sehingga jumlah fibroblas menurun dan penyembuhan luka bakar menjadi terhambat. Genistein yang terkandung dalam biji edamame memiliki sifat antiinflamasi, antibakteri dan antioksidan. Edamame juga mengandung vitamin A, C, dan E yang juga memiliki sifat antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol biji edamame (ED) dalam meningkatkan jumlah fibroblas pada penyembuhan luka bakar derajat II. Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan *post test only control group design*. Penelitian dilaksanakan di Universitas Jember pada November-Desember 2017. Sampel penelitian berjumlah 24 tikus model luka bakar derajat II yang dibuat dengan menempelkan logam panas (60°C) selama 5 detik pada punggung tikus yang telah dicukur. Sampel dibagi ke dalam 6 kelompok dengan perawatan topikal, antara lain: kelompok kontrol positif (*silver sulfadiazine*), kelompok kontrol negatif (Na CMC 0,5%), kelompok dengan pemberian ekstrak etanol biji edamame secara topikal yaitu ED 20%, ED 40%, ED 60%, ED 80%. Perawatan dilakukan selama 15 hari dan pengambilan sampel kulit dilakukan pada hari ke-16. Preparat dibuat dengan pewarnaan Hematoksilin dan Eosin. Pada uji *one way ANOVA*, diperoleh nilai signifikansi 0,011 ($p \leq 0,05$) yang berarti paling tidak terdapat perbedaan jumlah fibroblas yang bermakna antara 2 kelompok.

Kata kunci: penyembuhan luka bakar, edamame, genistein, jumlah fibroblas, *silver sulfadiazine*

ABSTRACT

*Burn wound healing process consists of three phases of inflammation, proliferation and remodelling. The number of fibroblasts has increased during the proliferation phase. Oxidative stress in burn may disrupt proliferation through TGF- β inhibition, result in decreased number of fibroblasts and poor burn wound healing. Genistein in edamame seeds has anti-inflammatory, antibacterial and antioxidant properties. Edamame contains vitamins A, C, and E which is also have antioxidant properties. Edamame has been suggested to protect burn wound healing from oxidative stress. This study aimed to understand the effectiveness of edamame seed (*Glycine max L. Merrill*) ethanolic extract (ED) to fibroblast count in second degree burn wound healing. This is true experimental research with post test only control group design. The study was conducted at University of Jember during November until December 2017. The sample of this research was 24 rat models of second degree burn which was made by attaching hot metal (60 ° C) for 5 seconds on the shaved back of the rats. The sample was divided into 6 groups with topical treatment, among others: positive control group (*silver sulfadiazine*), negative control group (Na CMC 0.5%), group with ED 20%, ED 40%, ED 60%, and ED 80%. Treatment was given for 15 days and skin sample was taken on the 16th day. In one way ANOVA test, significance value of 0.011 ($p \leq 0,05$) indicated that there was at least a significant difference between 2 groups.*

Keyword: burn wound healing, vegetable soybean, genistein, fibroblast count, silver sulfadiazine

PENDAHULUAN

Luka bakar menjadi masalah kesehatan tingkat global karena tingginya angka kejadian luka bakar. Pada tahun 2004, tercatat 11 juta orang mengalami luka bakar dan 310.000 diantaranya meninggal dunia. Insiden luka bakar mayoritas terjadi di negara-negara dengan pendapatan menengah dan rendah, khususnya negara-negara di Wilayah Asia Timur dan Selatan (Peden *et al.*, 2008). Dari 100.000 pasien luka bakar di India, persentase kejadian luka bakar didominasi oleh luka bakar derajat II yaitu sebesar 73%, luka bakar derajat I sebanyak 17%, dan sisanya sebanyak 10% adalah luka bakar derajat III (Sabarahi, 2010).

Prevalensi cedera di Indonesia secara nasional adalah 8,2%, diantaranya 0,7% merupakan cedera karena terbakar (Riyadina *et al.*, 2013). Unit Luka Bakar Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo menerangkan terdapat 275 pasien luka bakar, selama bulan Januari 2011 sampai Desember 2012, dengan jumlah pasien anak sebanyak 72 pasien (26 %) (Dewi, 2014). Data pasti mengenai angka kejadian luka bakar belum tercatat dengan baik di Indonesia.

Proses penyembuhan luka terdapat 3 fase yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi (remodelling) (Sjamsuhidajat, 2013). Jumlah fibroblas mengalami peningkatan selama fase proliferasi. Fase proliferasi berlangsung pada hari ke-3 sampai hari ke-21. Proliferasi fibroblas dipengaruhi oleh TGF- β , yakni suatu sitokin yang dihasilkan oleh sel makrofag (Mustaqim, 2014). Sitokin TGF- β dipengaruhi oleh radikal bebas dan antioksidan alami dalam tubuh. Pada stres oksidatif, kerja TGF- β akan terganggu dan menyebabkan penurunan proliferasi, migrasi, dan sintesis fibroblas (Irrera *et al.*, 2017). Hasil penelitian yang dilakukan pada 180 pasien luka bakar, menunjukkan adanya keterlibatan kuat stres oksidatif pada patogenesis luka bakar ringan (Al-Jawad *et al.*, 2008).

Luka bakar perlu ditangani dengan tepat untuk mencapai keberhasilan dalam penyembuhan. Prinsip penanganan utama luka bakar adalah mendinginkan daerah yang terbakar dengan air, mencegah infeksi pada luka, dan menutup permukaan luka. Obat yang dianjurkan dan umum digunakan adalah pemberian topikal golongan *silver sulfadiazine* (Sjamsuhidajat, 2013). Meskipun ada kemajuan teknik perawatan luka bakar, masih ada kecenderungan kegagalan pengobatan pada pasien. Pemberian antioksidan pada perawatan pasien luka bakar sangat dianjurkan

untuk mencegah morbiditas dan mortalitas dengan lebih efektif (Al-Jawad *et al.*, 2008).

Edamame merupakan salah satu komoditas unggulan di Kabupaten Jember dan telah menembus pasar internasional (Firmansyah dan Dhuha, 2014). Edamame mengandung zat antioksidan golongan isoflavon (Siddiq dan Prabawati, 2016). Genistein merupakan isoflavon utama pada kedelai edamame yang memiliki efek antiinflamasi, antibakteri, dan antioksidan (Yang *et al.*, 2012). Selain itu, edamame mengandung vitamin A, C, dan E yang termasuk antioksidan poten yang dapat digunakan secara topikal dan bermanfaat pada kulit (Samsu, 2001; Telang, 2013; Keen dan Hasan, 2016; Mukherjee, 2006; Mackay dan Miller, 2003). Antioksidan pada edamame dapat melindungi proliferasi fibroblas dari kerusakan akibat stres oksidatif (Irrera *et al.*, 2017). Kandungan-kandungan pada edamame dapat menjadi sumber antioksidan alami yang dipilih untuk terapi secara topikal pada penyembuhan luka bakar.

Berdasarkan uraian tersebut, potensi antioksidan pada edamame dapat diteliti pengaruhnya dalam memperbaiki proses penyembuhan luka bakar. Penelitian tentang potensi edamame pada penyembuhan luka diharapkan dapat meningkatkan nilai jual edamame. Biji edamame diduga memiliki efek lebih baik daripada kulitnya, karena terlindungi dari paparan pestisida yang dapat mengganggu proses penyembuhan luka. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. Merrill) terhadap jumlah fibroblas pada penyembuhan luka bakar derajat II.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Universitas Jember pada November-Desember 2017. Penelitian ini menggunakan desain penelitian *true experimental laboratories* secara *in vivo* dengan rancangan eksperimen sederhana *post test only control group design*. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang didapatkan dari peternak di Kabupaten Malang. Sampel yang dipilih adalah tikus jantan berusia 2-3 bulan dengan berat badan 150-250 gram, normal, sehat, dan memiliki kulit normal tanpa ditemukan kelainan. Sampel yang digunakan adalah 24 ekor tikus model yang diberi luka bakar derajat II. Sampel terbagi ke dalam 6 kelompok dengan jumlah 4 ekor tikus untuk setiap kelompok. Sampel dipilih dengan teknik acak sederhana (*simple random sampling*).

Etik Penelitian

Penelitian ini telah mendapat persetujuan etik dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember dengan nomor etik 1.190/H25.1.11/KE/2017 dan disetujui pada tanggal 06 November 2017.

Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi biji edamame dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 97%. Edamame seberat 10 kg dikupas lalu diambil bijinya. Biji edamame dicuci dan dikeringkan dalam suhu kamar hingga kadar air menjadi nol. Biji edamame kering dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk homogen dan ditimbang sebanyak 730 mg. Serbuk homogen dimaserasi dengan etanol 97% dengan perbandingan 1:10. 730 mg serbuk homogen dimaserasi ke dalam etanol 97% sebanyak 7,3 L selama 3 hari, sambil sesekali diaduk. Hasil maserasi disaring dengan kertas saring Whatmann dan didapatkan filtrat berwarna hijau segar. Filtrat kemudian diuapkan pada alat rotary evaporator pada suhu 50°C dan didapatkan ekstrak semi kental sebanyak 98,7 g berwarna hijau kehitaman.

Ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. Merrill) dilarutkan dengan Na CMC 0,5% sesuai rumus:

$$A = \frac{e}{v} \times 100\%$$

Keterangan rumus:

- A = konsentrasi ekstrak (%)
- e = volume ekstrak biji edamame (ml)
- v = volume zat pelarut/Na CMC 0,5% (ml)

Pemberian Luka Bakar

Luka bakar derajat II dibuat dengan menempelkan uang logam yang telah dipanaskan pada dry oven 60 °C selama 5 menit, kemudian ditempelkan pada punggung tikus yang telah dicukur selama 5 detik (Venter, *et al.*, 2015; Fuadi *et al.*, 2015). Tikus dianestesi dengan ketamin dosis 40 mg/kgBB dan xylazin dosis 5 mg/kgBB secara intraperitoneal (Tiesnamurti, 2016). Luka bakar derajat II memiliki ciri-ciri yaitu luka berwarna putih, nyeri sekali, tanpa bula, edema ringan sampai hari ke 3 setelah cedera (Pereira *et al.*, 2012).

Perawatan Luka Bakar

Luka bakar derajat II pada punggung tikus dibersihkan dengan normal saline, selanjutnya diberi perawatan secara topikal sesuai kelompok. Kelompok kontrol positif diberikan krim *silver sulfadiazine* dan kelompok kontrol negatif diberikan Na CMC 0,5%. Pada kelompok perlakuan diberi ekstrak yang telah dilarutkan dalam konsentrasi pada dosis 20%, 40%, 60%, dan 80%. Obat diberikan satu kali dalam sehari selama 15 hari pada pukul 08.00-11.00. Luka ditutup dengan kasa dan direkatkan dengan plester.

Pengamatan Preparat

Pada hari ke-16, hewan coba diterminasi kemudian jaringan kulit yang diberi perlakuan diambil dan disimpan dalam botol jaringan berisi formalin 10%. Sediaan kulit yang diambil terutama dari tepi luka karena proses penyembuhan luka sebagian besar berawal dari tepi. Sediaan kulit dikirim ke RSD Soebandi Jember untuk dilakukan pembuatan preparat histologi. Preparat menggunakan pewarnaan hematoksilin dan eosin (H&E).

Pengamatan histopatologi dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember. Preparat diamati dengan mikroskop cahaya pada perbesaran lensa 400x pada 5 lapang pandang yang digeser secara *zig zag*.. Pengamatan dilakukan dengan metode *blinding*. Sel fibroblas dihitung pada foto hasil pengamatan dengan menggunakan software *image-J*. Hasil dari 5 lapang pandang ini kemudian akan dirata-rata. Jumlah fibroblas dihitung sebagai rata-rata jumlah hitung dari kelima lapang pandang.

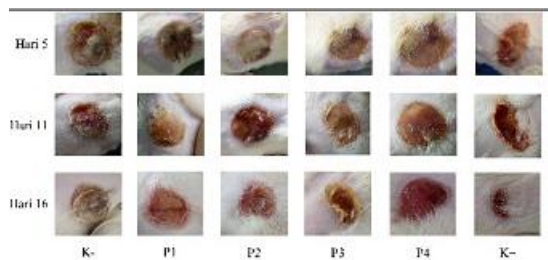
Analisis Data

Sebelum dilakukan uji statistik, dilakukan uji normalitas data berupa uji Saphiro Wilk dan uji homogenitas data berupa uji Lavene. Data yang terdistribusi normal diuji dengan *one way ANOVA* dan uji *post hoc* LSD untuk mengetahui perbedaan antar kelompok (Dahlan, 2013).

HASIL PENELITIAN

Dari hasil penelitian, didapatkan jumlah fibroblas hari ke-16 pada kelompok perlakuan dengan ekstrak

etanol biji edamame dosis 20%, 40%, 60%, dan 80% berturut-turut adalah $133,45 \pm 41,11$; $127,25 \pm 5,84$; $147,2 \pm 32,12$; dan $99,5 \pm 10,66$ sel per lapang pandang. Pada kontrol positif, jumlah fibroblas yang diamati sebesar $147,65 \pm 34,61$ sel per lapang pandang. Pada kontrol negatif, jumlah fibroblas yang diamati sebesar $97,275 \pm 10,38$ sel per lapang pandang. Perbedaan yang nyata pada penyembuhan luka dapat dilihat secara makroskopis pada pengecilan diameter luka seperti pada Gambar 4.1.



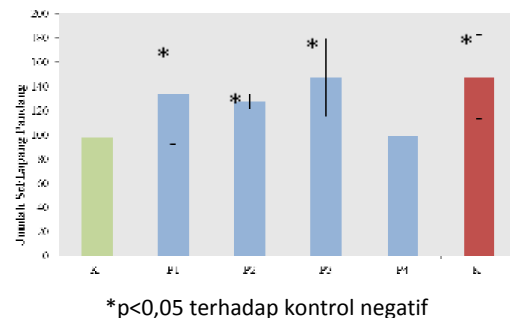
Gambar 4.1 Perbandingan makroskopis luka tiap kelompok (sumber: dokumen peneliti).

Uji normalitas data dengan *Saphiro-Wilk* menunjukkan nilai signifikansi diantaranya sebesar 0,439 ($p > 0,05$) pada kontrol negatif, 0,96 ($p > 0,05$) pada kelompok P1, 0,306 ($p > 0,05$) pada kelompok P2, 0,117 ($p > 0,05$) pada kelompok P3, dan 0,895 ($p > 0,05$) pada kelompok P4 yang berarti bahwa sebaran data normal pada tiap kelompok. Pada kontrol positif sebesar 0,023 yang berarti sebaran data tidak normal. Pada uji *Lavene*, nilai signifikansi sebesar 0,072 ($p > 0,05$) yang berarti bahwa varian data sama.

Pada penelitian ini, kelompok kontrol positif memiliki sebaran data tidak normal. Jika asumsi normalitas dilanggar, peneliti dapat menghapus kasus-kasus terpencil, mengubah data, atau melakukan tes non parametrik, selama proses tersebut dilaporkan dengan jelas (Nimon, 2012). Pada penelitian ini, data ditransformasi dengan log10 dan dilakukan inverse (Osborne, 2002) yaitu dimasukkan ke dalam rumus $1/\log_{10}-1$. Data kemudian diuji dengan one way ANOVA untuk mengetahui adanya perbedaan kelompok.

Uji *one way ANOVA* menunjukkan nilai signifikansi 0,011 ($p \leq 0,05$) yang berarti paling tidak terdapat perbedaan jumlah fibroblas yang bermakna dari 2 kelompok. Data kemudian dilanjutkan dengan analisis post hoc multiple comparison test

menggunakan metode LSD (Least Significant Difference) dengan nilai $p < 0,05$. Analisis LSD menunjukkan bahwa ada perbedaan bermakna pada kelompok P3 (ekstrak 60%) dengan kontrol negatif, kelompok P3 (ekstrak 60%) dengan kelompok P4 (ekstrak 80%), kelompok P4 (ekstrak 80%) dengan kontrol positif, dan kontrol negatif dengan kontrol positif.



Gambar 4.2 Histogram rata-rata jumlah fibroblas (sumber: dokumen peneliti)

PEMBAHASAN

Proses penyembuhan luka terdiri dari tiga fase, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase *remodelling*. Fase proliferasi berlangsung selama 3-24 hari tergantung luas luka. Perawatan luka bakar pada penelitian ini dilakukan selama 15 hari untuk melihat proses penyembuhan luka. Penyembuhan luka bakar diamati melalui peningkatan jumlah fibroblas pada hari ke-16. Hal ini berdasarkan penelitian Kalsum *et al.* (2015), proses penyembuhan luka yang diamati menunjukkan jumlah fibroblas pada hari ke-16 mengalami peningkatan.

Berdasarkan uji LSD, luka bakar yang dirawat dengan ekstrak etanol biji edamame 20, 40, dan 60% menunjukkan perbedaan bermakna pada jumlah fibroblas jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Dengan demikian, pemberian ekstrak etanol biji edamame secara topikal efektif dalam meningkatkan jumlah fibroblas pada proses penyembuhan luka. Makroskopis luka kelompok pemberian ekstrak 20, 40, dan 60% (P3) yang dapat dilihat pada Gambar 4.1 menunjukkan penutupan luka dengan diameter yang mengecil secara nyata pada hari ke-16.

Jumlah fibroblas mengalami peningkatan selama fase proliferasi. Proliferasi fibroblas dipengaruhi oleh TGF- β , yakni suatu sitokin yang dihasilkan oleh sel makrofag (Mustaqim, 2014). Sitokin TGF- β

dipengaruhi oleh radikal bebas dan antioksidan alami dalam tubuh. Pada keadaan radikal bebas yang berlebihan, kerja TGF- β akan terganggu dan menyebabkan penurunan proliferasi, migrasi, dan sintesis fibroblas (Santibanez, *et al.*, 2015). Radikal bebas yang dihasilkan pada luka bakar dapat mengganggu proses proliferasi fibroblas pada penyembuhan luka. Akibatnya, proses reepitelialisasi menjadi lambat dan hasil penutupan serta penyembuhan luka kurang sempurna (Hameedalddeen *et al.*, 2009). Enzim yang terkait pembentukan radikal bebas pada luka bakar yaitu *xanthine oxidase*. Selain itu, neutrofil yang adherensi dan aktif juga menghasilkan radikal bebas pada penyembuhan luka bakar (Horton, 2003).

Ekstrak etanol biji edamame mengandung isoflavon yang merupakan senyawa antioksidan dan berfungsi menangkal radikal bebas (Siddiq dan Prabawati, 2016). Komponen aktif dari isoflavon pada edamame meliputi genistein, daidzein dan glycitin (Kim *et al.*, 2015). Genistein mempercepat perbaikan jaringan luka dengan menghambat aktivitas yang menunda penyembuhan, serta meningkatkan proses remodelling pada matriks ekstra sel (Irrera *et al.*, 2017). Genistein juga menghambat aktivitas protein tirosin kinase dan meningkatkan proliferasi sel (Ponnusha *et al.*, 2011). Genistein diteliti dapat meningkatkan kadar TGF- β pada proses penyembuhan luka sekaligus melindungi proliferasi fibroblas dari gangguan stres oksidatif (Irrera, *et al.*, 2017). Pada penelitian ini, aktivitas isoflavon terutama genistein pada ekstrak etanol biji edamame mampu mempercepat penyembuhan luka melalui mekanisme antioksidan, untuk menangkal radikal bebas sehingga aktivitas TGF- β tidak terhambat dan proliferasi fibroblas meningkat.

Kandungan lain yang terdapat pada edamame adalah saponin, vitamin C, E dan vitamin A (Samsu, 2001). Saponin memiliki aktivitas antiinflamasi, antibakteri, dan antikarsinogenik yang mampu menstimulasi sintesis fibroblas oleh fibronectin (Kalsum *et al.*, 2015). Vitamin A (retinoid) baik untuk perawatan dan penunda penuaan pada kulit sehingga mendukung proses perbaikan jaringan pada penyembuhan luka. Sedangkan vitamin E mempercepat proses penyembuhan luka sebagai agen antioksidan (Keen dan Hasan, 2016; Mukherjee, 2006). Penelitian yang dilakukan Butt *et al.* (2017) menunjukkan pretreatment fibroblas dengan vitamin E sebelum transplantasi kulit yang terbakar mempercepat proses penyembuhan luka dengan cara meningkatkan *scavenging response*

terhadap antioksidan pada lingkungan stres oksidatif pada luka bakar (Butt *et al.*, 2017).

Vitamin C juga memiliki aktivitas antioksidan. Selain itu, vitamin C merupakan zat yang dapat meningkatkan produksi sel fibroblas dengan cara menghidroksi lisin dan prolin (Setyaningrum, 2002). Sebuah uji klinis yang dilakukan oleh Sarpooshi *et al.* (2016) juga menunjukkan bahwa pemberian cairan vitamin C secara topikal dapat mempercepat penyembuhan luka pada pasien luka bakar derajat II yang diukur dari peningkatan pembentukan jaringan granulasi pada hari ke-14.

Jumlah fibroblas yang menurun secara signifikan pada pemberian ekstrak etanol biji edamame 80%. Pada penelitian ini, proses penyembuhan luka pada kelompok dosis 80% lebih lambat yang diakibatkan adanya efek antagonis ekstrak etanol biji edamame sehingga mengurangi efektivitas ekstrak dalam penyembuhan luka bakar. Isoflavon dapat memberi efek yang disebut *biphasic*, yakni fungsi ganda isoflavonoid, baik secara agonis atau antagonis tergantung pada konsentrasi isoflavon yang ada. Isoflavon memiliki efek sebagai antagonis estrogen di lingkungan estrogen tinggi, atau dapat bertindak sebagai agonis estrogen di lingkungan estrogen rendah (Hwang *et al.*, 2006). Genistein juga menunjukkan efek *biphasic* pada penelitian terhadap regulasi pertumbuhan dan metastasis kanker prostat (Touny dan Banerjee, 2009). Pada dosis ekstrak etanol biji edamame 80% terdapat efek *biphasic* genistein yang menyebabkan penyembuhan luka bakar terhambat dan jumlah fibroblas menurun pada pengamatan.

Pada kontrol negatif, Na CMC 0,5% yang diberikan pada perawatan luka bakar merupakan pelarut ekstrak dan tidak mengandung ekstrak etanol biji edamame. Dari hasil penelitian, jumlah fibroblas pada kelompok perlakuan Na CMC 0,5% paling sedikit jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya yakni $97,275 \pm 10,38$ sel per lapang pandang. Hal ini disebabkan karena Na CMC 0,5% tidak mengandung senyawa seperti isoflavon, saponin, vitamin A, vitamin E, dan vitamin C. Hal ini sesuai dengan penelitian Fuadi *et al.* (2015), yaitu luka yang tidak diberi ekstrak memiliki jumlah fibroblas lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok yang diberi ekstrak. Jumlah fibroblas yang menurun pada kontrol negatif terjadi karena proses penyembuhan luka lebih lambat. Sesuai dengan penelitian Zulfia *et al.* (2014), yaitu pada kelompok yang tidak diberi ekstrak menunjukkan kecepatan reepitelialisasi menurun

dan scab (kerak luka) belum terlepas sehingga proses penyembuhan luka tidak sempurna.

Pada kontrol positif, jumlah fibroblas adalah $147,65 \pm 34,61$ sel per lapang pandang. Jumlah ini meningkat paling tinggi jika dibandingkan dengan seluruh kelompok. *Silver sulfadiazine* (SSD) yang diberikan pada kelompok ini merupakan *gold standard* pengobatan luka bakar secara topikal. Sediaan SSD yang digunakan adalah krim Burnazin® 1%. Selama beberapa dekade, SSD 1% telah digunakan untuk mengobati luka bakar dan luka kronis. Krim SSD memiliki spektrum aktivitas antimikroba yang luas, resistensi bakteri yang rendah, sedikit reaksi merugikan dan risiko toksisitas sistemik yang rendah (Hosseini *et al.*, 2009).

Krim SSD memiliki sifat antibakteri dengan cara berkompetisi dengan substrat PABA untuk sintesis enzim dihidropetroat sehingga mencegah sintesis asam folat bakteri, selain itu mampu merangsang sel-sel seperti makrofag untuk menghasilkan *growth factor* dan sitokin dalam proses penyembuhan luka seperti TGF- β , EGF, interleukin-1, interleukin-4 dan interleukin-8. Krim SSD juga mempunyai efek positif pada proliferasi fibroblas yang merupakan penghasil kolagen dan fibronektin (Esfahani *et al.*, 2012).

Kekurangan dari penelitian ini adalah pengamatan dilakukan satu kali, sehingga tidak dapat dilakukan pengamatan pada setiap fase penyembuhan luka. Hal ini memengaruhi interpretasi dari jumlah fibroblas yang didapatkan menurun pada dosis ekstrak yang lebih tinggi yakni antara lain disebabkan oleh fase penyembuhan telah berlanjut atau penyembuhan luka berjalan lambat.

Pemberian ekstrak tanpa menggunakan vehicle seperti basis krim atau basis salep menjadi kekurangan lain pada penelitian ini. Pemilihan pelarutan ekstrak dengan Na CMC 0,5% kurang sesuai jika dibandingkan dengan kontrol positif, yaitu menggunakan sediaan krim dengan zat aktif *silver sulfadiazine*. Pada saat perawatan luka, sulit dilakukan kontrol terhadap tikus yang menggaruk, menjilat, dan melepas ekstrak atau obat yang telah diaplikasikan pada luka bakar yang terletak di punggung tikus. Penggunaan kasa dan perekat telah digunakan untuk mengurangi kejadian penggarukan dan penjilatan oleh tikus, akan tetapi peneliti tidak dapat mengontrol upaya tikus untuk melepas kasa tersebut. Penggunaan *vest-collar*, salah satu tipe *rodent collar*, seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Jang *et al.* (2016) dapat dipasang di leher tikus

selama penelitian berlangsung untuk mencegah tikus dari menjilat dan menggaruk bagian luka.

Pada penelitian ini, pemberian anastesi menyebabkan sianosis pada 2 tikus cadangan dan berakhir kematian. Kematian terjadi beberapa saat setelah pemberian ketamin dan xylazin secara intraperitoneal. Pemberian dosis, ketamin 40 mg/KgBB tikus dan xylazin 5 mg/KgBB, masih dalam rentang dosis efektif sesuai dengan Petunjuk Teknis Penggunaan dan Perawatan Rodentia sebagai Hewan Coba yang dikeluarkan oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Peternakan (Tiesnamurti, 2016). Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui faktor-faktor sianosis pada tikus yang diberi anastesi ketamin dan xylazin.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. Merril) secara topikal dapat meningkatkan jumlah fibroblas pada penyembuhan luka bakar derajat II. Pemberian secara topikal ekstrak etanol biji edamame (*Glycine max* L. Merril) pada dosis 60% efektif jika dibandingkan dengan kontrol negatif.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada dr. Ika Rahmawati Sutejo, M.Biotech. Dan dr. Enny Suswati, M.Kes. Atas bimbingan yang diberikan selama penelitian hingga tersusun-nya artikel penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Jawad, F. H., A.S. Sahib, A. A. Al-Kaisy. 2008. Role Of Antioxidant In The Treatment Of Burn Lesions. *Annals Of Burn And Fire Disaster*. 21(4): 186-191.
- Butt, H., A. Mehmood, M. Ali, S. Tasneem, M. S. Anjum, M. N. Tarar, S. N. Khan, S. Riazuddin. 2017. Protective Role Of Vitamin E Preconditioning Of Human Dermal Fibroblasts Against Thermal Stress In Vitro. *Life Sciences*. 184: 1-9.
- Dewi, R. 2014. *Tata Laksana Luka Bakar Pada Anak*. Dalam *Current Evidences In Pediatric Emergencies Management*. Jakarta: Departemen Ilmu Kesehatan Anak FKUI-RSCM.

- Esfahani, Imanieh, Khoshneviszadeh, Meshksar, Noorafshan, Geramizadeh, Ebrahimi, Handjani, Tanideh. 2012. The Healing Effect Of Arnebia Euchroma In Second Degree Burn Wounds In Rat As An Animal Model. *Iranian Red Crescent Med Journal*. 14(2): 70-74.
- Firmansyah Dan Dhuha. 2014. Kedelai Jember Tembus Pasar Internasional. Pusdatin Sekretariat Kabinet Republik Indonesia. [Http://Setkab.Go.Id/Kedelai-Jember-Tembus-Pasar-Internasional/](http://Setkab.Go.Id/Kedelai-Jember-Tembus-Pasar-Internasional/). [Diakses Pada 10 Juni 2017].
- Fuadi, M. I., U. Elfiah, Misnawi. 2015. Jumlah Fibroblas Pada Luka Bakar Derajat II Pada Tikus Dengan Pemberian Gel Ekstrak Etanol Biji Kakao Dan Silver Sulfadiazine. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 3(2): 244-248.
- Hameedaldeen, A., J. Liu, A. Batres, G. S. Graves, D. T. Graves. 2014. FOXO1, TGF-B Regulation And Wound Healing. *International Journal Of Molecular Sciences*. 15: 16257-16269.
- Horton, J. W. 2003. Free Radicals And Lipid Peroxidation Mediated Injury In Burn Trauma: The Role Of Antioxidant Therapy. *Toxicology*. 189:75-88.
- Hosseini, S. N., A. Karimian, S. N. Mousavinasab, H. R. Rahmanpour, M. Yamini, S. H. Zahmatkesh. 2009. Xenoderm Versus 1% Silver Sulfadiazine In Partial-Thickness Burns. *Asian Journal Of Surgery*. 32(4): 234-239.
- Hwang, C. S., H. S. Kwak, H. J. Lim, S. H. Lee, Y. S. Kang, T. B. Choe, H. G. Hur, K. O. Han. 2006. Isoflavone Metabolites And Their In Vitro Dual Functions: They Can Act As An Estrogenic Agonist Or Antagonist Depending On The Estrogen Concentration. *Journal Of Steroid Biochemistry And Molecular Biology*. 101:246-253.
- Irrera, N., G. Pizzino, R. D'Anna, M. Vaccaro, V. Arcoraci, F. Squadrito, D. Altavilla, A. Bitto. 2017. Dietary Management Of Skin Health: The Role Of Genistein. *Nutrients*. 9(622): 1-10.
- Jang, Y., Y. E. Park, C. W. Yun, D. H. Kim, H. Chung. 2016. The Vest-Collar As A Rodent Collar To Prevent Licking And Scratching During Experiments. *Laboratory Animal*. 50(4): 296-304.
- Kalsum, U., Y. W. Utami, L. Mafula. 2015. Perbedaan Perawatan Luka Bakar Derajat II Menggunakan Ekstrak Kedelai (Glycine Max) Dan Normal Salin Terhadap Jumlah Sel Fibroblas Pada Tikus (Rattus Norvegicus) Galur Wistar. *Majalah Kesehatan FK UB*.
- Keen, M. A. Dan I. Hassan. 2016. Vitamin E In Dermatology. *Indian Dermatology Online Journal*. 7(4): 311-314.
- Kim, Y. M., J. S. Huh, Y. Lim, M. Cho. 2015. Soy Isoflavone Glycitin (4'-Hydroxy-6-Methoxyisoflavone-7-D-Glucoside) Promotes Human Dermal Fibroblast Cell Proliferation And Migration Via TGF-B Signaling. *Phytotherapy Research*. 29: 757-769.
- Mackay, D., A. L. Miller. 2003. Nutritional Support For Wound Healing. *Alternative Medicine Review*. 8(4): 359-377.
- Mukherjee, S., A. Date, V. Patravale, H. C. Korting, A. Roeder, G. Weindl. 2006. Retinoid In The Treatment Of Skin Aging: An Overview Of Clinical Efficacy And Safety. *Clinical Intervention In Aging*. 1(4): 372-348.
- Mustaqim, K.B. 2014. Pengaruh Gel Ekstrak Etanol Biji Kakao (Theobroma Cacao) Terhadap Jumlah Fibroblas Pada Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat II Secara In Vivo. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Nimon, K. F. 2012. Statistical Assumptions Of Substantive Analyses Across The General Linear Model: A Mini-Review. *Frontiers In Psychology*. 3(322): 71-75.
- Osborne, J. W. 2002. Note On The Use Of Data Transformations. *Practical Assesment, Research & Evaluation*. 8 (6): 1-7.
- Peden, M., K. Oyegbite, J. Ozanne-Smith, A. A. Hyder, C. Branche, A. K. M. F. Rahman, F. Rivara, K. Bartolomeeos. 2008. *World Report On Child Injury Prevention*. Switzerland: World Health Organization Publisher.
- Ponnusha, B. S., S. Subramaniam, P. Pasupathi, B. Subramaniam, R. Virumandy. 2011. Review Article: Antioxidant And Antimicrobial Properties Of Glycine Max. *Int J Cur Bio Med Sci*. 1(2): 49-62.
- Riyadina, W., A. M. Sirait, S. Tuminah, F. X. Suharyanto, Z. Nantabah. 2013. *Cedera*. Riset Kesehatan Dasar 2013: 100-110.

- Sabarahi, S. 2010. *Principles And Practice Of Burn Care*. New Delhi: Jaypee Ltd
- Santibanez, J. F., J. Krstic, D. Trivanovic, S. Mojsilovic. 2015. Transforming Growth Factor-Beta And Oxidative Stress Interplay: Implications In Tumorigenesis And Cancer Progression. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*. 2015: 1-10.
- Samsu, S.H. 2001. *Edamame: Vegetable Soybean*. Jember: PT Mitratani Dua Tujuh.
- Sarpooshi, H. R., F. Mortazavi, M. Vaheb, Y. Tabarayee. 2016. The Effects Of Topical Vitamin C Solution On Burn Wounds Granulation: A Randomized Clinical Trial. *J Biomed. In Press(In Press)*. E8301:1-5
- Setyaningrum, A. 2002. Pengaruh Pemberian Vitamin C Dosis Tertentu Terhadap Kecepatan Pertumbuhan Penyembuhan Luka Pasca Pencabutan Gigi. *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada
- Shurtleff, W. Dan A. Aoyagi. 2009. *History Of Edamame, Green Vegetable Soybeans, And Vegetable-Type Soybeans (1275 - 2009): Extensively Annotated Bibliography And Sourcebook*. Lafayette: Soyinfo Center.
- Siddiq, H. B. H. F., E. F. Prabawati. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Edamame (Glycine Max L. Merrill) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*. 1(1): 27-31.
- Sjamsuhidajat, R. 2013. *Buku Ajar Ilmu Bedah Sjamsuhidajat-De Jong*. Edisi 3. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Telang, P. S. 2013. Vitamin C In Dermatology. *Indian Dermatology Online Journal*. 4(2): 143-146.
- Tiesnamurti, B. 2016. *Penggunaan Dan Penanganan Hewan Coba Rodentia Dalam Penelitian Sesuai Dengan Kesejahteraan Hewan*. Bandung: Pusat Penelitian Dan Pengembangan Peternakan.
- Touny, L. H. E. Dan P. P. Banerjee. 2009. Identification Of A Biphasic Role For Genistein In The Regulation Of Prostate Cancer Growth And Metastasis. *Cancer Research*. 69 (8): 3695-3703.
- Yang, Z., K. Kulkarni, W. Zhu, M. Hu. 2012. Bioavailability And Pharmacokinetics Of Genistein: Mechanistic Studies On Its ADME. *Anticancer Agent Med Chem*. 12(10): 1264-1280.
- Zulfia, R., Y. W. Utami, E. Asmaningsih. 2014. Pengaruh Pemberian Topikal Ekstrak Etanol (Glycine Max) Terhadap Pembentukan Jaringan Epitel Pada Perawatan Luka Bakar Derajat II Pada Tikus Wistar. *Berkala Ilmiah Mahasiswa Keperawatan Indonesia*. 2(2): 19-30.