

**EFEKTIVITAS *OZONATED VIRGIN COCONUT OIL*
DOSIS BERTINGKAT TERHADAP PENYEMBUHAN
LUKA *FULL THICKNESS SKIN GRAFT* AUTOLOG
Ditinjau dari Proliferasi Fibroblas dan Ekspresi *Vascular Endothelial
Growth Factor* pada Tikus *Sprague Dawley***

***EFFECTIVENESS OF STEPPING DOSE OZONATED VIRGIN
COCONUT OIL FOR WOUND HEALING IN AUTOLOGOUS
FULL THICKNESS SKIN GRAFT*
*In terms of Fibroblas Proliferation and the Expression of Vascular
Endothelial Growth Factor in Sprague Dawley Rats***



**Tesis
Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana S-2**

Magister Ilmu Biomedik

**Johan Rinto Even Napitupulu
22010117420022**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2019**

TESIS

**EFEKTIVITAS *OZONATED VIRGIN COCONUT OIL* DOSIS
BERTINGKAT TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA *FULL THICKNESS*
SKIN GRAFT AUTOLOG : Ditinjau Dari Proliferasi Fibroblas Dan Ekspresi
Vascular Endothelial Growth Factor Pada Tikus *Sprague Dawley***

Disusun Oleh :

Johan Rinto Even Napitupulu
22010117420022

telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 29 Juli 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

DR. dr. Hardian
NIP.196304141990011001

dr.Najatullah, Sp.BP-RE(K), MARS
NIP.196707181998031001

Ketua Penguji

Penguji Anggota

dr.Renni Yuniati Sp,KK(K), FINSDV,
NIP. 1967206232009022001

Dr.dr. Neni Susilaningsih,MSi
NIP. 196301281989022001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Dr. dr. Yan Wisnu Prajoko, Sp.B., Sp. B(K)Onk
NIP. 19750124 200801 1 006

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 atau lembaga pendidikan lainnya, serta tidak terdapat unsur-unsur yang tergolong plagiarism sebagaimana dimaksud dalam Permendiknas No.17 tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Juli 2019

dr. Johan Rinto Even Napitupulu

22010117420022

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : dr. Johan Rinto Even Napitupulu

NIM : 22010117420008

Tempat / Tanggal Lahir: Duri, 9 Juli 1983

Agama : Kristen Protestan

Jenis Kelamin: Laki-laki

B. Riwayat Pendidikan

1. SD St. Antonius, Medan : lulus tahun 1995
2. SLTP St. Maria , Medan : lulus tahun 1998
3. SMA Negeri 5, Medan : lulus tahun 2001
4. FK Universitas Sumatera Utara, Medan: lulus tahun 2008
5. Magister Ilmu Biomedik FK UNDIP: 2018 – sekarang

C. Riwayat Pekerjaan

1. Dokter RS Siloam, Jambi tahun 2009 – 2018

D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang Tua

Ayah: Altur Napitupulu.

Ibu : Lukynar br. Lubis

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan berkah-Nya, sehingga kami dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “Efektivitas Ozonated Virgin Coconut Oil Dosis Bertingkat Terhadap Penyembuhan Luka Full Thickness Skin Graft Autolog: Ditinjau dari Proliferasi Fibroblas dan Ekspresi Vascular Endothelial Growth Factor pada Tikus Sprague Dawley”.

Penelitian ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar derajat sarjana S-2 Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.

Tesis ini diharapkan dapat memberikan kontribusi terhadap perkembangan ilmu di bidang bedah terutama bidang bedah plastik.

Pada kesempatan yang baik ini, ingin kami menyampaikan ucapan terimakasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. dr. Dwi Pudjonarko, M.Kes., Sp.S (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
2. Dr. dr. Yan Wisnu Prajoko, M.Kes, Sp.B, Sp.B(K)Onk selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro (2017 – sekarang).
3. Dr. dr. Hardian selaku pengajar sekaligus pembimbing I dalam penelitian ini, atas segala waktu, tenaga dan bimbingan yang diberikan sehingga tesis ini dapat diselesaikan
4. dr.Najatullah, Sp.BP-RE(K), MARS selaku pengajar sekaligus pembimbing II dalam penelitian ini, atas segala waktu, tenaga dan bimbingan yang diberikan sehingga tesis ini dapat diselesaikan.
5. Dr. dr. Renni Yuniati Sp.KK, FINS DV dan Dr. dr. Neni Susilaningsih, M.Si selaku tim penguji dalam tesis ini.
6. Kepada dr. Nauval Marta Kusuma dan dr. Rollin Hansen Sidauruk, rekan satu penelitian tesis yang telah membantu kelangsungan penelitian ini.

7. Guru-guru Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah memberi pengetahuan dan bimbingan kepada kami serta memberikan motivasi selama mengikuti program pendidikan magister dan penyusunan tesis ini.
8. Semua rekan mahasiswa Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, khususnya teman-teman PPDS Bedah Angkatan 69, karyawan dan karyawan Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro serta staf yang telah membantu kami selama dalam penelitian hingga penyusunan tesis.
9. Pimpinan dan staf Laboratorium Plasma Research Universitas Diponegoro, atas bantuan dan kerjasamanya dalam pembuatan virgin coconut oil terozonasi
10. Pimpinan dan staf Lembaga Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Brawijaya, Malang atas bantuan dan kerjasamanya dalam melaksanakan penelitian untuk menyelesaikan tesis ini.
11. Orang tua kami Bapak Altur Napitupulu dan Ibu Lukynar Lubis atas dukungannya dalam menyelesaikan tesis ini.

Kami menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu kami mengharapkan saran dan kritik untuk kesempurnaan tesis ini. Akhir kata, kami mohon maaf atas segala kesalahan dan kekhilafan, sengaja maupun tidak sengaja baik itu perkataan atau perbuatan yang kami lakukan selama kami menyelesaikan tesis ini.

Semarang, 29 Juli 2019

dr. Johan Rinto Even

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR GRAFIK.....	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
ABSTRAK.....	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.2.1 Masalah Umum	4
1.2.2 Masalah Khusus	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.5 Penelitian Terdahulu	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Proses Penyembuhan Luka	8
2.2 Mekanisme Neovaskularisasi Pada Penyembuhan Luka	10

2.3 Proses Angiogenesis Terhadap Penyembuhan Luka	13
2.4 Fibroblas	15
2.5 <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (VEGF)	16
2.6 Peranan Ozon Terhadap Penyembuhan Luka	19
2.7 Respon sel kulit terhadap paparan ozon	21
2.8 Full Thickness Skin Graft	22
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	24
3.1 Kerangka Teori	24
3.2 Kerangka Konsep	25
3.3 Hipotesis Penelitian	25
BAB IV METODE PENELITIAN	26
4.1 Ruang Lingkup	26
4.2 Rancangan Penelitian	27
4.3 Variabel Penelitian	31
4.4 Definisi Operasional	32
4.5 Cara Pengumpulan Data	33
4.6 Alur Penelitian	40
4.7 Prosedur Perawatan luka dan perlakuan	41
4.8 Pengolahan dan Analisis Data	46
4.9 Persyaratan Etik Penelitian	47
BAB V HASIL PENELITIAN	48
5.1 Kondisi Graft	51
5.2 Analisa data	51
5.2.1 Deskripsi data jumlah Fibroblas	51
5.2.2 Deskripsi data ekspresi VEGF	56
5.3 Uji Distribusi Data	59
5.4 Uji Hipotesis	60

5.4.1	Kelompok Hari ke-6	60
5.4.2	Kelompok hari ke-12	61
BAB VI PEMBAHASAN		62
6.1	Karakteristik subjek penelitian	62
6.2	Efek Ozonated Virgin Coconut Oil terhadap makroskopis FTSG....	62
6.3	Efek Ozonated Virgin Coconut Oil dosis bertingkat terhadap jumlah Fibroblas.....	63
6.4	Efek Ozonated Virgin Coconut Oil dosis bertingkat terhadap ekspresi VEGF	65
6.5	Keterbatasan Penelitian	67
BAB VII SIMPULAN DAN SARAN		68
7.1	Simpulan	68
7.2	Saran	69
DAFTAR PUSTAKA		70

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Orisinalitas Penelitian	6
Tabel 2. Efek biokimia ozon dalam darah	19
Tabel 3. Daerah Donor yang Diperhatikan untuk <i>FTSG</i>.....	23
Tabel 4. Definisi Operasional	32
Tabel 5. Karakteristik Data Jumlah Fibroblas	53
Tabel 6. Uji Normalitas Data Jumlah Fibroblas dengan Saphiro Wilk	54
Tabel 7. Analisis Post Hoc Bonferoni Jumlah Fibroblas Antar Kelompok Hari ke 6	55
Tabel 8. Analisis Post Hoc Bonferoni Jumlah Fibroblas Antar Kelompok Hari ke 12	56
Tabel 9. Karakteristik Data Ekspresi VEGF	58
Tabel 10. Uji Normalitas Data Ekspresi VEGF dengan Saphiro Wilk.....	59
Tabel 11. Analisis Post Hoc Bonferoni Ekspresi VEGF Antar Kelompok Hari ke 6	60
Tabel 12. Analisis <i>Post Hoc Bonferroni</i> ekspresi VEGF Antar Kelompok Hari ke 12	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Mekanisme neovaskularisasi	11
Gambar 2. Langkah-langkah pertunasan angiogenesis	14
Gambar 3 Metabolisme Ozon dalam Eritrosit	20
Gambar 4. Mekanisme metabolik pada Reaksi Ozon Criegee dan aldehide ..	21
Gambar 5. Rancangan Penelitian	28
Gambar 6. Skema alat pembuatan minyak berozon	34
Gambar 7. Teknik pembuatan <i>full thickness skin graft</i> autolog	36
Gambar 8. Penampakan makroskopis luka <i>full thickness skin graft</i>	51
Gambar 9. Jumlah Fibroblas	52
Gambar 10. Grafik box plot data jumlah fibroblast	54
Gambar 11. Ekspresi VEGF	57
Gambar 12. Grafik box plot data ekspresi VEGF	59

DAFTAR GRAFIK

Grafik 1. Grafik box plot data jumlah fibroblast	54
Grafik 2. Grafik box plot data ekspresi VEGF	59

DAFTAR SINGKATAN

EPC : Endothelial Progenitor Cell

VCO : Virgin Coconut Oil

ROS : Reactive Oxygen Species

NO : Nitric Oxide

Tgf- β : Transforming Growth Factor – Beta

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

FTSG : Full Thickness Skin Graft

PDGF : Platelet- Derived Growth Factor

PAF :Platelet Activating Factor

MMP : Matriks Mielo Protein

Tnf-A : Tumor Nekrosis Factor

Inf- Γ : Interferon Γ

Efektivitas Ozonated Virgin Coconut Oil Dosis Bertingkat Terhadap Penyembuhan Luka Full Thickness Skin Graft Autolog Ditinjau Dari Proliferasi Fibroblas Dan Ekspresi Vascular Endothelial Growth Factor Pada Tikus Sprague Dawley

Johan Rinto Even*, Hardian**, Najatullah**, Renni Yuniati**, Neni Susilaningsih**

*) Mahasiswa S2 Biomedik – Residen Bedah Umum FK UNDIP/RSUP dr. Kariadi, Semarang
**) Staf Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

Abstrak

Pendahuluan : Skin graft saat ini menjadi salah satu terapi pilihan pada proses penyembuhan luka yang selalu berkembang. Proses pembentukan fibroblas dan pembentukan *growth factor* seperti VEGF memiliki peran penting dalam penyembuhan luka skin graft. Minyak VCO yang telah terozonasi memiliki peran yang penting dalam penyembuhan luka.

Tujuan : Membuktikan efek VCO terozonasi dalam berbagai dosis dalam meningkatkan jumlah proliferasi fibroblas dan ekspresi VEGF pada luka skin graft.

Metode : Penelitian ini adalah studi eksperimental dengan “*Randomized parallel study with controlled group design*” terhadap 40 ekor tikus Sprague Dawley dilakukan skin graft autolog pada waktu yang bersamaan. Sampel dibagi secara acak menjadi 8 grup (K1 dan K2 = tanpa pemberian kafein), (A1 dan A2 = ozonated VCO 50,4 mg/ml), (B1 dan B2 = ozonated VCO 103,2 mg/ml), (C1 dan C2 = ozonated VCO 204 mg/ml). Penilaian jumlah fibroblast dilakukan dengan pengecatan *hematoxylin & eosin* pada hari ke 6 dan 12, dan ekspresi VEGF dilakukan dengan pengecatan *imunohistokimia* setelah hari ke 6 dan 12 pasca skin graft.

Hasil : Uji statistik perbandingan jumlah fibroblast pada hari ke 6 didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok K1 vs A1 ($p = 0,029$), K1 vs B1 ($p = 0,004$), K1 vs C1 ($p = 0,000$), pada hari ke 12 didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok K2 vs A2 ($p = 0,029$), K2 vs B2 ($p = 0,010$), K2 vs C2 ($p = 0,001$). Analisis statistik perbandingan ekspresi VEGF pada hari ke 6, didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok K1 vs A1 ($p = 0,024$), K1 vs B1 ($p = 0,005$), K1 vs C1 ($p = 0,001$), pada hari ke 12 didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok K2 vs A2 ($p = 0,011$), K2 vs B2 ($p = 0,036$), K2 vs C2 ($p = 0,004$).

Kesimpulan : Ozonated VCO efektif terhadap peningkatan jumlah fibroblas dan ekspresi VEGF jaringan pada proses penyembuhan luka *full thickness skin graft autolog* tikus Sprague Dawley.

Kata Kunci : Ozonated VCO, *full thickness skin graft*, fibroblas, VEGF

Effectiveness Of Stepping Dose Ozonated Virgin Coconut Oil For Wound Healing In Autologous Full Thickness Skin Graft In Terms Of Fibroblast Proliferation And The Expression Of Vascular Endothelial Growth Factor In Sprague Dawley Rats

Johan Rinto Even*, Hardian**, Najatullah**, Renni Yuniati**, Neni Susilaningsih**

*) *Biomedical Student -General Surgery Resident FK UNDIP / RSUP dr. Kariadi, Semarang*

**) *Staff of the Diponegoro University Medical School, Semarang*

Abstract

Background: Now, Skin grafts are one of the therapies of choice in the wound healing process. And this is still developing today. The process of formation fibroblas and the formation of vascular endothelial growth factor have an important role in healing skin graft wounds. Ozonated virgin coconut oil has an important role in wound healing.

Objective: To prove the effect of ozonated virgin coconut oil in various doses in increasing number of fibroblas and expression of vascular endothelial growth factor of skin graft wounds.

Methods: This study is an experimental study with "*Randomized parallel study with controlled group design*" on 40 Sprague Dawley rats which are performed an autologous skin graft at the same time. Samples were divided randomly into 8 groups (K1 and K2 = without ozonated VCO), (A1 and A2 = ozonated VCO 50,4 mg/ml), (B1 and B2 = ozonated VCO 103,2 mg/ml), (C1 and C2 = ozonated VCO 204 mg/ml). Evaluation of the amount of fibroblas was done by staining hematoxylin & eosin after the 6th day and the expression of vascular endothelial growth factor was done by staining immunohistochemistry after the 12th day after skin graft.

Results: Statistical analysis of the amount of fibroblas after the 6th day was found to be significantly different between the K1 vs A1 group ($p = 0.029$), K1 vs B1 ($p = 0.004$), K1 vs C1 ($p = 0.000$), on the 12th day was found significantly different the amount of fibroblast between K2 vs A2 ($p = 0,029$), K2 vs B2 ($p = 0,010$), K2 vs C2 ($p = 0,001$). The expression of vascular endothelial growth factor on the 6th day was found a significant difference between the K1 vs A1 group ($p = 0.024$), K1 vs B1 ($p = 0.005$), K1 vs C1 ($p = 0.001$), on the 12th day was found significantly different the expression of vascular endothelial growth factor between K2 vs A2 ($p = 0,011$), K2 vs B2 ($p = 0,036$), K2 vs C2 ($p = 0,004$).

Conclusion: Ozonated VCO can increase the amount of fibroblas and expression of vascular endothelial growth factor in the wound healing process of autologous skin graft in Sprague Dawley rats.

Keywords: Ozonated VCO, full thickness skin graft, fibroblas, VEGF.

