



*Original Article*

## Kombinasi Suplementasi Omega 3 dengan Restriksi Kalori Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Tikus *Sprague Dawley* Kajian Pada VEGF dan Re-Epitelisasi

Doglas Rama Bayu Ardha<sup>1</sup>, Edi Dharmana<sup>1</sup>, Erik Prabowo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Magister Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

<sup>2</sup>KSM Bedah RSUP Dr. Kariadi Semarang

### Abstrak

p-ISSN: 2301-4369 e-ISSN: 2685-7898  
<https://doi.org/10.36408/mhjcm.v7i2.517>

**Diajukan:** 26 Februari 2020  
**Diterima:** 08 Juli 2020

**Afiliasi Penulis:**  
Program Studi Magister Biomedik,  
Fakultas Kedokteran  
Universitas Diponegoro

**Korespondensi Penulis:**  
Doglas Rama Bayu Ardha  
Jl. Prof. Soedarto Tembalang,  
Kec. Tembalang, Kota Semarang,  
Jawa Tengah 50275

**E-mail:**  
doglasramabayuardha@gmail.com

**Latar belakang :** Cedera sel yang luas pada luka bakar melepaskan banyak mediator inflamasi. Respon tubuh yang berlebihan pada keadaan tersebut akan memperberat kerusakan sel yang sudah terjadi. Nutrisi (lemak) yang cukup seperti omega 3 dapat membantu proses penyembuhan luka serta mencegah infeksi pada luka supaya tidak menjadi luka kronis. Maka dari itu peneliti memilih judul penelitian tentang efektifitas kombinasi suplementasi omega 3 dengan restriksi kalori terhadap penyembuhan luka bakar pada tikus *Sprague Dawley*, ditinjau dari VEGF dan Re-epitelisasi. Untuk mengetahui tingkat efektifitas suplementasi Omega 3 dan restriksi kalori pada penyembuhan luka bakar.

**Metode :** Peneliti dalam melakukan penelitian menggunakan metode penelitian eksperimental dengan menggunakan 1 kelas kontrol dan 3 kelas perlakuan tikus *Sprague Dawley*, yang diinduksi luka bakar kemudian diberi perlakuan, dan diamati secara berkala.

**Hasil :** Didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diuji dengan *one way ANOVA* mempunyai nilai  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ), dan uji *Mann-Whitney* didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan 1, 2, 3, dan kelompok kontrol  $p = 0,025$ ;  $0,004$ ;  $0,004$ ;  $0,004$ ;  $0,004$ , nilai  $p < 0,05$ . Dan uji *Games-Howell* ditunjukkan pada kolom rerata  $\pm$  SD jika memuat huruf yang berbeda berarti ada perbedaan yang bermakna ( $p\text{-value} < 0,05$ )  $K1 = 23,3587a \pm 0,57556$ ;  $P1 = 17,1015b \pm 2,60108$ ;  $P2 = 124,1503c \pm 15,30168$ ;  $P3 = 237,5053d \pm 0,78263$ .

**Simpulan :** Kombinasi suplementasi omega 3 dengan restriksi kalori berpengaruh signifikan terhadap penyembuhan luka bakar pada tikus *Sprague Dawley*.

**Kata kunci :** Penyembuhan Luka bakar, Sprague Dawley, Omega 3, Restriksi Kalori

## The combination of omega-3 supplementation and calorie restriction in burn wound healing in Sprague Dawley mouse : A study on VEGF and re-epithelialization

### Abstract

**Background :** Extensive cell injury to burns releases inflammatory mediators. It's led to excessive body response and cause aggravate cell damage that has already occurred. Adequate nutrients (fat) like omega 3 can help the healing process and prevent infection in wounds to become chronic. Therefore the researchers chose the title of the study of the effectiveness combination omega-3 supplementation with calorie restriction for burns in Sprague Dawley rats, in terms of VEGF and Re-epithelialization. To determine the effectiveness of Omega 3 supplementation and calorie restriction when healing burns.

**Methods :** The researchers using experimental research methods with 1 control and 3 training classes of Sprague Dawley mice, which were induced by burns were then observed periodically.

**Results :** The results showed a significant difference between the control group and the treatment group tested by one way ANOVA having a value of  $p = 0.000$  ( $p < 0.05$ ), and the Mann-Whitney test found a significant difference between the treatment groups 1, 2, 3, and the control group  $p = 0.025$ ;  $0.004$ ;  $0.004$ ;  $0.004$ ;  $0.004$ ,  $p$  value  $< 0.05$ . And the Games-Howell test is shown in the mean column  $\pm$  SD if it contains different letters it means there is a significant difference ( $p$ -value  $< 0.05$ )  $K1 = 23.3587a \pm 0.57556$ ;  $P1 = 17.1015b \pm 2.60108$ ;  $P2 = 124,1503c \pm 15.30168$ ;  $P3 = 237.5053d \pm 0.78263$ .

**Conclusion :** The researchers concluded that the combination of omega-3 supplementation with calorie retention had a significant effect on burn healing in Sprague Dawley rats.

**Keywords :** Burn Healing, Sprague Dawley, Omega 3, Calorie Restriction

### PENDAHULUAN

Cedera sel yang luas pada luka bakar akan melepaskan banyak mediator inflamasi. Respon tubuh yang berlebihan pada keadaan tersebut akan memperberat kerusakan sel yang sudah terjadi dan dapat menyebabkan luka kronis.<sup>2</sup> Hal tersebut tentunya berpengaruh terhadap produktifitas pasien dan lama waktu rawatan yang berdampak pada meningkatnya biaya pemeliharaan kesehatan.<sup>1-3</sup> Data dari *US Wound Registry* di Amerika Serikat pada tahun 2012 menunjukkan bahwa prevalensi luka kronis pada seluruh populasi di Amerika Serikat cukup rendah yaitu 2%, namun anggaran biaya yang dihabiskan setiap tahun untuk perawatan dan pengobatan lebih tinggi jika dibandingkan dengan penyakit lainnya. Sedangkan di Indonesia prevalensi luka bakar yang berujung pada kematian terdapat 250 kasus yang dilaporkan.<sup>4,5,15</sup> Maka dari itu upaya untuk mencegah suatu luka bakar menjadi luka kronis sangat penting.<sup>1</sup> Proses penyembuhan luka sendiri dipengaruhi beberapa faktor salah satunya nutrisi atau sering disebut imunonutrisi, yang didefinisikan sebagai nutrisi spesifik untuk memodulasi sistem imun pada saat terjadi proses cedera.<sup>7</sup> Selain itu beberapa penelitian menyimpulkan bahwa pembatasan asupan kalori (kalori restriksi) juga mempercepat proses penyembuhan luka, karena ekspresi gen stres oksidatif dan stres amelioratif tingkat seluler saat terjadi cedera jaringan dapat ditekan sehingga meningkatkan kemampuan regenerasi sel pasca cedera.<sup>7</sup> Pada saat mengalami cedera yang serius sumber utama energi yang dipakai oleh tubuh adalah lemak, salah satunya ialah Omega-3. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa

pemberian Omega-3 dengan dosis tinggi 352 mg/kg/hari dan Restriksi kalori memiliki pengaruh terhadap proses penyembuhan luka.<sup>7,8</sup> Perbedaan hasil penelitian tersebut mendorong peneliti melakukan penelitian eksperimental pada hewan coba tikus galur *Sprague Dawley* untuk menilai efektivitas imunonutrisi omega-3 dan kalori restriksi yang dilakukan sesudah perlakuan luka bakar terhadap proses penyembuhan luka ditinjau melihat VEGF dan reepitelisasi.

Hipotesis penelitian ini adalah kombinasi suplementasi Omega 3 dan restriksi kalori dapat mempercepat penyembuhan luka bakar pada tikus *Sprague Dawley* di tinjau dari peningkatan VEGF dan reepitelisasi. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian suplementasi omega-3 dan restriksi kalori terhadap penyembuhan luka bakar pada tikus *Sprague Dawley* ditinjau dari VEGF dan Re-epitelisasi. Dengan harapan dapat menurunkan lama perawatan dengan mempercepat proses penyembuhan luka.

### METODE PENELITIAN

Peneliti menggunakan metode penelitian eksperimental dengan 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok terdiri dari 6 tikus *Sprague Dawley* sesuai dengan kriteria besaran sampel WHO. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini harus memenuhi kriteria inklusi : Tikus *Sprague Dawley* jantan dan sehat berusia rata-rata 12 minggu dengan berat badan 200–250 gram. Sedangkan tikus yang mati saat perlakuan, memiliki abnormalitas anatomis, dan menunjukkan perubahan perilaku selama masa penelitian

akan dimasukkan dalam kriteria sampel yang dieksklusi. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian Hewan Bagian Biokimia Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dan diamati di Departemen Patologi Anatomi, FK Universitas Brawijaya Malang selama satu bulan sejak Oktober 2019–November 2019.

Tikus yang telah memenuhi kriteria inklusi akan diaklimatisasi dan induksi luka bakar, kemudian dibagi ke dalam 4 kelompok secara acak. Kelompok 1 diberikan diet *ad libitum* selama 14 hari, kelompok 2: diberikan diet restriksi kalori selama 14 hari, kelompok 3: diberikan suplementasi omega 3 selama 14 hari, kelompok 4: diberikan suplementasi omega 3 serta diet restriksi kalori selama 14 hari. Masing-masing kelompok terdiri dari 6 tikus. Kemudian diamati secara makroskopis pada hari ke 5,7,10, 14. Makroskopis pada hari ke 21 pada fase proliferasi untuk mengukur proses reepitalisasi luka.

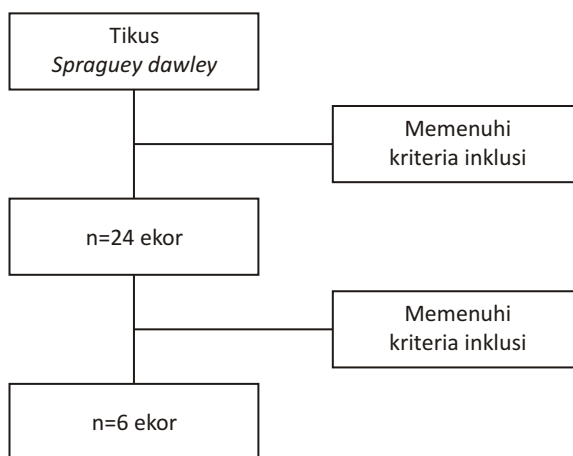
Variabel pada penelitian ini terdiri dari variabel bebas yaitu pemberian suplementasi omega 3 dan pemberian restriksi kalori, dan variabel terganggunya yaitu jumlah VEGF dan Reepitelisasi. Kadar VEGF dievaluasi dengan metode *enymed linked immunosorbent assay* (ELISA). Reepitelisasi diketahui dari pengukuran ketebalan epitelisasi normal antara 75–150 µm yang diukur pada hari ke 21 setelah luka bakar dimana masih fase proliferasi pada tikus secara mikroskopis. Setelah hasil dari pengukuran kadar VEGF, dan reepitalisasi didapat, kemudian dicatat dan dianalisis secara

deskriptif. Sebelum dilakukan uji hipotesis, Data hasil pengukuran VEGF, dan reepitelisasi dalam penelitian ini tidak diukur tingkat kesepakatan antar pengamat (*inter-rate reliability*) menggunakan koefisien Cohen's kappa. Hasil pengukuran di uji hipotesis menggunakan program SPSS 20. Data deskriptif akan disajikan dalam bentuk tabel dengan menyajikan data rerata dan standar deviasi. Uji normalitas data dilakukan dengan uji *Saphiro–Wilk*. Sedangkan uji hipotesis dilakukan uji hipotesis untuk variabel kategorik tidak berpasangan >2 kelompok dan numerik yaitu dengan *One Way Anova*, dan alternative uji hipotesis *Kruskal Wallis*. Data dianggap bermakna apabila nilai  $p \leq 0,05$ . Interval kepercayaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 95%.

Penelitian ini menggunakan hewan coba dan menerapkan *animal ethics*. *Animal ethics* diperoleh dari pengajuan kepada Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dengan nomer *Ethical Clearance* No. 144/EC/H/KEPK/FK.UNDIP/XI/2019. Perlakuan pada hewan disesuaikan dengan standar pemeliharaan binatang dan pelaporan penelitian disesuaikan dengan NC3R ARRIVE *Guidelines for Animal Research*.

### HASIL

Dua puluh empat sampel yang telah diberi perlakuan dan diamati kadar VEGF dan reepitelisasinya kemudian dilakukan uji statistik pada ke 4 kelompok perlakuan



Gambar 1. Alur penelitian

TABEL 1  
Hasil dan analisa data berat badan tikus

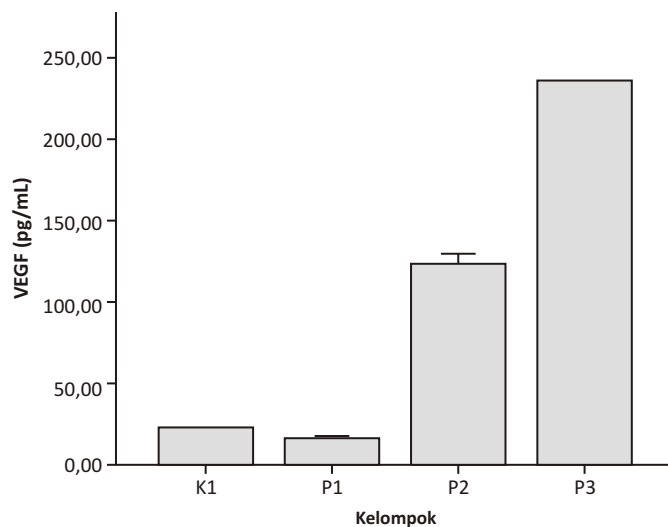
BB Tikus (gram)	K1	P1	P2	P3	p value
Median	131,50	125	134	125	0,466
Min – Max	105 – 188	125 – 145	128 – 168	110 – 150	

Keterangan: Uji *Kruskall Wallis* berat badan tikus *Sprague Dawley*, dengan uji ini, tampak bahwa  $p > 0,05$  lalu dilakukan *Post Hoc* dengan uji *Mann–Whitney* sehingga bisa dinyatakan berat badan tikus tidak berbeda secara signifikan

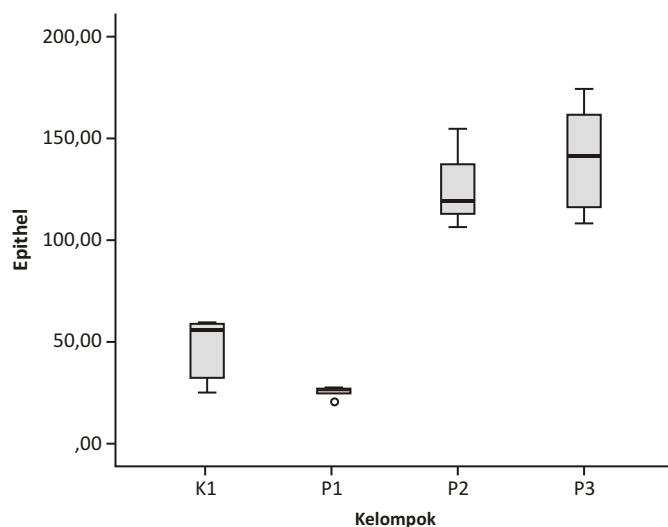
TABEL 2  
**Post Hoc Test Mann-Whitney Perbaikan Luka Bakar**

Perlakuan	K1	P1	P2
P1	0,025*	–	–
P2	0,004*	0,004*	–
P3	0,004*	0,004*	0,262

Keterangan : \* memiliki perbedaan yang bermakna



**Gambar 2.** Grafik Kadar VEGF dari masing-masing kelompok



**Gambar 3.** Grafik *boxplot* perbandingan perbaikan luas luka bakar masing-masing kelompok

tikus *Sprague Dawley* : yaitu kelompok tikus yang diberikan luka bakar dan diberikan pakan normal sesuai kebutuhan tetapi tidak diberikan omega 3 maupun restriksi kalori (K1), kelompok tikus yang diberikan

restriksi kalori (P1), kelompok tikus yang diberikan suplementasi omega 3 (P2), dan kelompok tikus yang diberikan suplementasi omega 3 dan restriksi kalori (P3) didapatkan penurunan kadar VEGF secara signifikan

pada kelompok (P1) jika dibandingkan (K) sebesar 23,3587 pg/mL berbanding 17,1015 pg/mL. Pemberian omega-3 pada masing-masing kelompok luka bakar dengan atau tanpa restriksi kalori menunjukkan pengaruhnya, dimana kadar VEGF cenderung naik. Tampak bahwa pemberian omega 3 tanpa restriksi kalori, menaikkan kadar VEGF secara signifikan, dengan nilai 124,1503 pg/mL berbanding 23,3587 pg/mL. Sedang pemberian omega 3 dengan restriksi kalori, menaikkan kadar VEGF secara signifikan, dengan nilai: 237,5053 pg/mL berbanding 23,3587 pg/mL. Dibuktikan dengan uji *One Way ANOVA* nilai  $p=0,000$  ( $p<0,05$ ) pada interval kepercayaan (CI= 95%). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian suplementasi omega-3 berhasil secara signifikan menaikkan kadar VEGF plasma darah tikus model luka bakar dengan atau tanpa restriksi kalori.

Hasi uji statistik reepitalisasi luka bakar didapatkan nilai  $p<0,001$  ( $p<0,05$ ) dengan interval kepercayaan (CI=95%), yang artinya signifikan terdapat perbedaan perbaikan luas luka bakar antara dua kelompok pada uji *Kruskal Wallis*. Kemudian dilanjutkan *Post Hoc Test Mann-Whitney* tampak bahwa reepitelisasi luka bakar menurun secara signifikan pada kelompok (P1) dibandingkan dengan kelompok (K1), sebesar 26,9200  $\mu\text{m}^2$  berbanding 56,1950  $\mu\text{m}^2$ . Pemberian omega-3 pada masing-masing kelompok luka bakar dengan atau tanpa restriksi kalori menunjukkan pengaruhnya, dimana reepitelisasi luka bakar cenderung naik. Tampak bahwa pemberian omega-3 tanpa restriksi kalori (P2) reepitalisasi tampak naik secara signifikan, dengan nilai 118,9800  $\mu\text{m}^2$  dibandingkan dengan kelompok K1 dan P1. Sedangkan reepitelisasi luka bakar dengan pemberian omega-3 dan restriksi kalori (P3) tampak naik secara signifikan, dengan nilai 141,0800  $\mu\text{m}^2$  dibandingkan dengan kelompok K1 dan P1, sedangkan antara kelompok P2 dengan P3 tidak ada perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa suplementasi omega-3 berhasil secara signifikan meningkatkan reepitelisasi tikus model luka bakar dengan atau tanpa restriksi kalori.

## DISKUSI

Kadar VEGF dan re-epitelisasi luka bakar pada tikus yang mendapatkan suplementasi omega 3 dan atau restriksi kalori dibandingkan dengan yang mendapat diet ad libitum berbeda bermakna dengan kontrol negatif. Menurut Peng, dkk bahwa pemberian suplementasi omega 3 pada tikus meningkatkan re-epitelisasi dibandingkan kelompok kontrol. Selain itu, pemberian suplementasi omega 3 juga meningkatkan kadar IL-6, IL-10 dan menurunkan kadar TNF-alfa. Sedangkan menurut Ishak, dkk pemberian suplementasi omega 3 juga meningkatkan deposisi kolagen, ekspresi kolagen-1, ekspresi hidrosoprolin, MCP-1, EGF, dan VEGF. VEGF berperan penting dalam proses angiogenesis yang

akan mempercepat penyembuhan luka.<sup>14</sup> Sebagai mitogen spesifik sel endotel, keberadaan VEGF akan menginduksi NO dan Cgmp. Tingginya kadar VEGF menandakan bahwa proses angiogenesis sedang berlangsung dengan baik.

Pengaruh omega 3 terhadap penyembuhan luka bakar diamati juga dengan menilai reepitelisasi luka bakar pada jaringan kulit. Dari hasil pemeriksaan reepitelisasi luka bakar dengan pemberian suplementasi omega 3 pada masing-masing kelompok luka bakar dengan atau tanpa restriksi kalori menunjukkan pengaruhnya, reepitelisasi luka bakar cenderung meningkat dan bernilai secara signifikan jika dibandingkan dengan kelompok yang tidak mendapatkan suplementasi omega 3. Hal ini dikarenakan omega 3 memiliki komponen biologis aktif untuk membantu penyembuhan luka. Sintesis sitokin proinflamatori dipengaruhi oleh konsentrasi omega 3. Keterlibatan asam lemak pada kesehatan epidermal menunjukkan bahwa pemberian omega 3 merupakan terapi yang dapat diberikan untuk memperbaiki respon inflamasi. Selain itu, omega 3 yang merupakan asam lemak tak jenuh berantai ganda merupakan sumber dari struktur dan fungsi membran sel.<sup>13</sup> Yi-Chi Peng, *et al* melakukan penelitian mengenai pemberian emulsi lipid yang diperkaya dengan omega 3 mempercepat penyembuhan luka eksperimental pada tikus dengan kontrol placebo, dan ditemukan bahwa peningkatan reepitelisasi, peningkatan kadar IL-6, IL-10 dan peningkatan kadar VEGF pada grup tikus yang di berikan omega 3 dibandingkan dengan kontrol.<sup>13</sup> Sama halnya dengan penelitian ini, ditemukannya peningkatan kadar VEGF pada kelompok yang diberikan Omega 3 dibandingkan dengan yang tidak diberikan.

Hasil analisa data antara kelompok yang diberikan suplementasi omega 3 dengan restriksi kalori dengan kelompok yang diberikan suplementasi omega 3 tanpa restriksi kalori ditemukan tidak adanya perbedaan yang bermakna secara signifikan. Hal ini dikarenakan peran omega 3 sebagai anti-inflamasi. Omega 3 memiliki efek menghambat proses kemotaksis saat inflamasi. Pengaruhnya dalam menghambat kemotaksis neutrofil dan monosit ke lokasi inflamasi. Omega 3 menghambat kemotaksis dengan mengurangi ekspresi dan menjadi antagonis terhadap reseptor kemotraktans.<sup>12</sup> Sedangkan restriksi kalori akan menekan pembentukan radikal bebas dan respons inflamasi, teori radikal bebas berkaitan dengan *reactive oxygen species* (ROS) yang mana restriksi kalori dapat mengurangi reaktifitas dari lemak visceral dan akumulasi energi akan menginduksi inflamasi kronik.<sup>14</sup> Sehingga kombinasi omega 3 dengan restriksi kalori dapat membantu dalam proses penyembuhan luka.

Hasil penelitian antara kelompok yang diberikan restriksi kalori saja dengan kelompok kontrol dan kelompok yang mendapatkan suplementasi omega 3

ditemukan adanya perbedaan bermakna dimana ditemukan bahwa kadar VEGF cenderung lebih rendah dibandingkan kelompok lain dan reepitelisasi luka bakar cenderung rendah dibandingkan dengan kelompok lain. Hal ini sejalan dengan penelitian Harrison, *et al* pada tahun 1991 dan Roth, *et al* pada tahun 1997 menunjukkan bahwa restriksi kalori memperlambat penyembuhan luka pada tikus.<sup>10,11</sup> Proses perlambatan ini terjadi pada proses produksi kolagen dan penyembuhan luka secara keseluruhan pada tikus yang mengalami restriksi kalori.<sup>10</sup> Pada penelitian lain juga memiliki hasil bahwa penyembuhan luka pada tikus yang mendapatkan restriksi kalori hampir sama hasilnya dengan kelompok kontrol. Menurut Nicole D. Hunt *et al* yang melakukan penelitian untuk menilai pengaruh penyembuhan luka pada tiga kelompok mencit. Kelompok perlakuan terdiri atas restriksi kalori, diet normal, dan restriksi kalori beberapa saat perlakuan luka yang dilanjutkan dengan diet biasa. Percobaan tersebut menyimpulkan penyembuhan luka yang paling cepat adalah pada kelompok restriksi kalori yang dilanjutkan dengan diet biasa disusul dengan kelompok diet normal dan restriksi kalori sepanjang percobaan.<sup>8</sup> Sehingga perlu diteliti lagi efek dari kalori restriksi dengan memastikan kalori yang mana yang harus di restriksi, selain itu juga harus dipastikan berapa jumlah restriksi kalori yang baik untuk penyembuhan luka.

Keterbatasan penelitian ini terdapat pada higienitas masing-masing tikus yang tidak seragam, dimana hal tersebut berpengaruh dalam proses penyembuhan luka, perbedaan dalam pengambilan sampel jaringan luka yang tidak presisi, dan tidak dapat ditentukannya fase penyembuhan luka sedang terjadi pada hari ke empat belas pengambilan sampel tersebut karena proses penyembuhan luka pada tikus jenis *Sprague Dawley* ini mungkin berbeda dengan proses penyembuhan luka pada manusia.

## SIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian kombinasi suplementasi omega 3 dengan restriksi kalori dapat meningkatkan kadar VEGF dan reepitelisasi luka bakar yang berpengaruh terhadap proses penyembuhan luka bakar, secara bermakna dan signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol yang hanya diberi larutan fisiologis dan makanan biasa, dan tidak ada perbedaan secara signifikan dibandingkan dengan kelompok yang hanya diberikan suplementasi omega 3 tanpa restriksi kalori.

Penelitian ini dapat dilanjutkan tidak hanya pada hewan coba tapi pada manusia untuk melihat pengaruh manfaat suplementasi omega 3 sebagai anti inflamasi pada tubuh manusia. Pada penelitian selanjutnya ada pembuktian untuk membuktikan mengenai komponen mana dari kandungan omega 3 yang berperan besar

terhadap proses penyembuhan luka. Melihat beberapa penelitian sebelumnya. Pengaruh restriksi kalori terhadap perbaikan luka yang kurang signifikan maka penelitian selanjutnya lebih menjelaskan jumlah kalori mana yang akan direstriksi dan jumlah restriksi kalori yang terbaik sehingga dapat diketahui komponen mana yang berperan besar terhadap proses penyembuhan luka. Dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan salep topikal antibiotik yang dioleskan pada luka bakar dari masing-masing kelompok untuk melihat dan lebih mengetahui apakah efek penyembuhannya bisa lebih cepat dan lebih baik lagi.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Bruncardi F C, Anderson DK, Billiar T R, Dunn DL. Schwartz's Principles of Surgery 10<sup>th</sup> Edition. New York : McGraw-Hill Education. 2015
2. Herndon DN. Total Burn Care [internet]. 2012 [diakses 7 September 2019] <https://ia800504.us.archive.org/4/items/TotalBurnCare4thEd./Total%20Burn%20Care%20%284th%20Ed.%29.pdf>
3. Rose LF, Chann RK. The burn wound microenvironment. *Advances in Wound Care* [internet]. 2016 [diakses 10 September 2019];5:3:106-118 DOI:10.1089/wound.2014.0536
4. Caroline EF, Carter MJ, Walker D, Thomsons B. Wound care outcomes cost among patient wound center : Data From the US Wound Registry. *Wounds* [internet] 2012 [diakses 12 September 2019] . 24 ( 1 ) : 10 - 17 . [http://www.woundsresearch.com/files/wounds/WOUND\\_S\\_January2012\\_Fife.pdf](http://www.woundsresearch.com/files/wounds/WOUND_S_January2012_Fife.pdf)
5. Hayati F, Maleki M, Maryam, Sardari K, *et al*. Influence of short-term, Repeated fasting on the skin wound healing of female mice. *Wounds* [ Internet ]. 2011. [diakses 12 September 2019] ; 23 (2): 38-43 <https://www.researchgate.net/publication/265204934>
6. BPJS Kesehatan. Info BPJS kesehatan media internal resmi BPJS Kesehatan Edisis VIII [internet]. Jakarta: BPJS Kesehatan. 2014 [diakses 20 September 2019]. <https://bpjs-kesehatan.go.id/bpjs/>
7. Chow O, Barbul A. Immuno nutrition role in wound healing and tissue regeneration. *Advances In Wound Care* [internet], Januari 2012 [diakses 12 September 2019]; (3): 1: 46-53. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3900114/>
8. Hunt ND, Lii GD, Zhu M, Levette A, Chachich ME *et al*. Effect of Caloric restriction and Refeeding on Skin wound healing in the rat [internet], September 2011 [diakses 12 September 2019]; 34:1453-1458. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22037865>
9. Seltz O, Schurmann C, Hermes N, Müller E, Frank JPS, Goren I. Wound healing in mice with high fat Diet-or-ob Gene-Induced Diabetes-Obesity Syndromes: A Comparative Study. *Experimental Diabetes Research* [internet]. Des 2010 [diakses 12 September 2019] : 1 - 15 . <https://www.hindawi.com/journals/jdr/2010/476969/DOI:10.1155/2010/476969>
10. Rajindar S. Sohal, Michael J. Forster. Caloric restriction and the aging process: a critique. *Free radical biology and medicine*. Elsevier. Volume 73, August 2014, Pages 366-382.
11. Yeon Ja Choi. Shedding Light on the Effects of Calorie Restriction and Its Mimetics on Skin Biology. *Nutrients* 2020, 12, 1529; doi:10.3390/nu12051529
12. Xia J, Wu X, Yang Y, Zhao Y, Fang M, Xie W *et al*. SIRT1

- deacetylates RFX5 and antagonizes repression of collagen type I (COL1A2) transcription in smooth muscle cells. *BiochemBiophys Res Commun.* 2012;428(2):264–270.
13. Peng Y, Yang F, Subeq Y, Tien C, Chao Y, Lee R. Lipid Emulsion Enriched in Omega-3 PUFA Accelerates Wound Healing: A Placebo-Controlled Animal Study. *World J Surg.* 2017;42(6):1714–1720.
  14. Ishak W, Katas H, Yuen N, Abdullah M, Zulfakar M. Topical application of omega-3-, omega-6-, and omega-9-rich oil emulsions for cutaneous wound healing in rats. *Drug DelivTransl Re.* 2018;9(2):418–433.
  15. Anonim 2009. <http://www.lukabakar.org>. Pemutakiran Tatalaksana Perawatan Pasien Luka Bakar. Diakses tanggal 1 Oktober 2009.