

**PENGARUH KRIM EKSTRAK BUAH DELIMA
(*Punica granatum*) TERHADAP KADAR PDGF
DAN IL-1 PADA TIKUS PASCA LUKA EKSISI**

Tesis

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai
derajat Magister (S2)**



Magister Ilmu Biomedik

Anggun Permata Sari

MBK.23.21.010341

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG 2024**

TESIS
PENGARUH KRIM EKSTRAK BUAH DELIMA (*Punica granatum*) TERHADAP KADAR PDGF DAN IL-1 PADA TIKUS PASCA LUKA EKSISI

disusun oleh:

Anggun Permata Sari

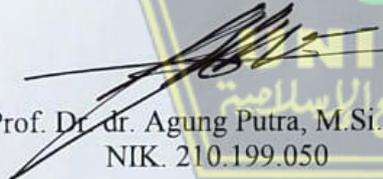
MBK.23.21.010341

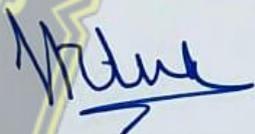
Telah dipertahankan didepan Tim Penguji
06 Juni 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui:

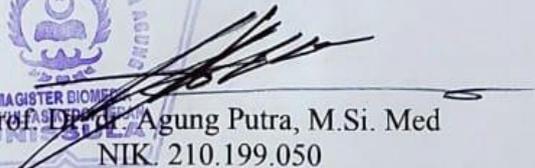
Pembimbing I

Pembimbing II


Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si. Med
NIK. 210.199.050


Prof. Dr. Ir. Hj. Titiek Sumarawati, M.Kes
NIK. 220.198.045

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


Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si. Med
NIK. 210.199.050

PERNYATAAN

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



KATA PENGANTAR

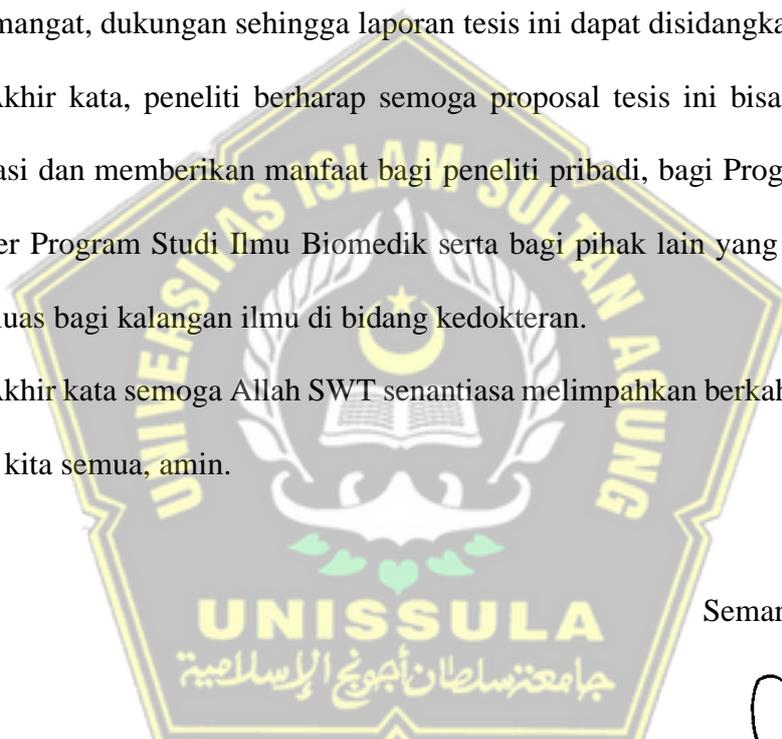
Puji syukur kehadiran Allah SWT, sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal tesis dengan judul, “PENGARUH KRIM EKSTRAK BUAH DELIMA (*Punica granatum*) TERHADAP EKSPRESI PDGF DAN IL-1 PADA TIKUS PASCA LUKA EKSISI”. Laporan tesis ini disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Magister Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, penulis ingin mengucapkan terimakasih, yakni kepada:

1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH., M.Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung beserta para wakil rektor yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh dan menyelesaikan Pendidikan Magister Ilmu Biomedik.
2. Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H, Sp.F selaku dekan Fakultas Kedokteran UNISSULA dan sekaligus sebagai penguji III, yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti pendidikan di program Magister Ilmu Biomedik.
3. Prof. Dr. dr. Agung Putra., M.Si., Med selaku ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik dan selaku Pembimbing I yang memberi bimbingan masukan penyusunan selama penyusunan laporan tesis ini.
4. Prof. Dr. Ir. Hj. Titiek Sumarawati, M.Kes selaku pembimbing II yang juga telah meluangkan banyak waktu, memberikan semangat serta masukan selama penyusunan laporan tesis ini.
5. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp.D.V.E, Subsp.D.K.E, FINS DV, FAADV selaku penguji I yang telah memberikan masukan serta arahan dan semangat untuk perbaikan laporan tesis ini.
6. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B selaku penguji II yang telah memberikan masukan serta arahan dan semangat untuk perbaikan laporan tesis ini.

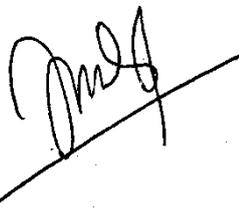
7. Pada dosen pengajar dan rekan-rekan staf Magister Ilmu Biomedik yang tidak dapat disebutkan satu-satu yang telah memberikan doa dan dorongan kepada penyusun.
8. Civitas Akademika Prodi Magister Biomedik yang telah memberikan semangat, dan membantu segala hal terkait dalam penyelesaian laporan tesis ini.
9. Kedua Orang Tua, Suami dan Anak-anak tercinta yang telah memberikan doa, semangat, dukungan sehingga laporan tesis ini dapat disidangkan.

Akhir kata, peneliti berharap semoga proposal tesis ini bisa menjadi bahan informasi dan memberikan manfaat bagi peneliti pribadi, bagi Program Pendidikan Magister Program Studi Ilmu Biomedik serta bagi pihak lain yang berkepentingan secara luas bagi kalangan ilmu di bidang kedokteran.

Akhir kata semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan berkah dan rahmatnya kepada kita semua, amin.



Semarang, Mei 2024


(Anggun Permata Sari)

DAFTAR ISI

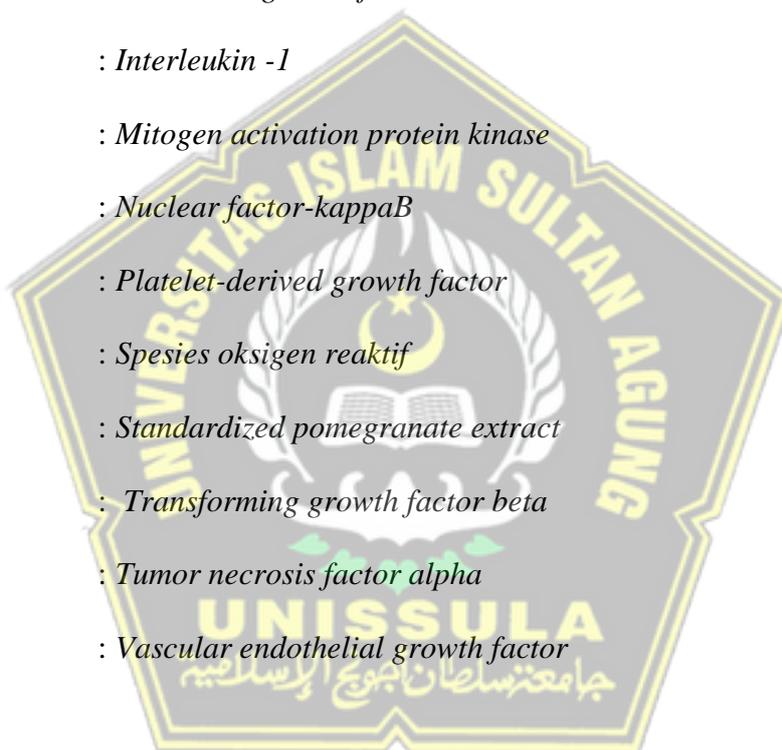
	Halaman
TESIS	i
KATA PENGANTAR	ii
RIWAYAT HIDUP	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR ISTILAH	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
ABSTRAK	xii
ABSTRACT	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah Penelitian	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Teoritis	4
1.4.2 Manfaat Praktis	5
1.5 Originalitas Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 PDGF (<i>Platelet derived growth factor</i>)	8
2.1.1 Mekanisme aktivasi PDGF	9
2.2 IL-1 (<i>Interleukin-1</i>)	12
2.3 Buah delima (<i>Punica granatum</i>)	14
2.3.1 Morfologi dan Ekofisiologi Delima	15
2.3.2 Kandungan Buah Delima	16
2.4 Luka	18
2.4.1 Klasifikasi Luka	18
2.4.2 Mekanisme molekuler pada Luka	20

2.4.3 Fase penyembuhan luka.....	22
2.5 Pengaruh krim ekstrak buah delima terhadap kadar PDGF dan IL-1 pada luka eksisi	23
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS PENELITIAN	26
3.1 Kerangka teori	26
3.2 Kerangka Konsep	29
3.3 Hipotesis.....	29
BAB IV METODE PENELITIAN	30
4.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	30
4.1.1 Jenis Penelitian	30
4.1.2 Rancangan Penelitian.....	31
4.1.3 Populasi dan Sampel Penelitian.....	31
4.2 Besar Sampel.....	32
4.3 Teknik Sampling Penelitian	33
4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	34
4.4.1 Variabel Penelitian.....	34
4.5 Definisi Operasional.....	34
4.6 Bahan atau Materi Penelitian.....	35
4.6.1 Bahan Penelitian	35
4.6.2 Instrumen Penelitian	35
4.7 Cara Penelitian dan Alur kerja	36
4.7.1 Perolehan Ethical Clearance	36
4.7.2 Cara Pembuatan Ekstrak buah delima	36
4.7.3 Persiapan Hewan Uji	37
4.7.4 Pembuatan Sediaan Krim Ekstrak buah delima.....	37
4.7.5 Pengambilan Sampel Jaringan Kulit Tikus Luka Eksisi.....	38
4.7.6 Pemeriksaan kadar PDGF dan IL-1 Menggunakan Metode ELISA.....	38
4.8 Tempat dan Waktu Penelitian.....	41
4.6.1 Tempat Penelitian	41
4.6.2 Waktu Penelitian	41

4.9 Metode Analisis Data	41
4.10 Alur Penelitian.....	42
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	43
5.1 Hasil Penelitian.....	43
5.1.1 Gambaran makroskopis luka eksisi pada tiap kelompok perlakuan	44
5.1.2 Hasil pemeriksaan kadar IL-1 jaringan kulit setelah hari ke 3 perlakuan.....	46
5.1.3 Hasil pemeriksaan kadar IL-1 jaringan kulit setelah hari ke 7 perlakuan.....	48
5.1.4 Hasil pemeriksaan kadar PDGF jaringan kulit setelah hari ke 3 perlakuan	51
5.1.5 Hasil pemeriksaan kadar PDGF jaringan kulit setelah hari ke 7 perlakuan	52
5.2 Pembahasan	54
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	58
6.1. Kesimpulan.....	58
6.2. Saran.....	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN	63
1. <i>Ethical Clearance</i>	63
2. Hasil pemeriksaan dengan metode ELISA	64
3. Dokumentasi penelitian	68
4. Lampiran uji statistik.....	70

DAFTAR ISTILAH

ADP	: <i>Adenosin difosfat</i>
AMP	: <i>Antimicrobial peptida</i>
DAMPs	: <i>Damage-associated molecular pattern</i>
FGF	: <i>Fibroblast growth factor</i>
IGF	: <i>Insulin-like growth factor</i>
IL-1	: <i>Interleukin -1</i>
MAPK	: <i>Mitogen activation protein kinase</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear factor-kappaB</i>
PDGF	: <i>Platelet-derived growth factor</i>
ROS	: <i>Spesies oksigen reaktif</i>
SPE	: <i>Standardized pomegranate extract</i>
TGF- β	: <i>Transforming growth factor beta</i>
TNF- α	: <i>Tumor necrosis factor alpha</i>
VEGF	: <i>Vascular endothelial growth factor</i>



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Aktivasi jalur PDGF.....	9
Gambar 2.2 Buah delima.....	15
Gambar 2.3 Peran makrofag dalam penyembuhan luka.	21
Gambar 2.4 Tahap penyembuhan luka.....	23
Gambar 3.1. Skema Kerangka Teori.....	28
Gambar 3.2. Skema Kerangka Konsep.....	29
Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian.....	31
Gambar 4.2 Skema Alur Penelitian.....	42
Gambar 5.1 Luka eksisi tanpa perlakuan (A) dan Luka eksisi dengan perlakuan	44
Gambar 5.2 Diameter penyembuhan luka hari ke 7 kelompok tanpa perlakuan (A), Kelompok base cream (B), Kelompok bioplacenton (C), krim ekstrak 10% (D), dan krim ekstrak 20% (E).....	45
Gambar 5.3 Grafik rerata kadar IL-1 antar kelompok.....	47
Gambar 5.4 Grafik rerata kadar IL-1 antar kelompok perlakuan setelah hari ke 7	49
Gambar 5.5 Grafik rerata kadar PDGF antar kelompok perlakuan setelah hari ke 3	52
Gambar 5.6 Grafik rerata kadar PDGF antar kelompok perlakuan setelah hari ke 7	53

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian.....	5
Tabel 5.1 Hasil uji deskriptif rerata kadar IL-1 dan uji <i>One way anova</i>	46
Tabel 5.2 Hasil uji <i>Post hoc Tamhane</i> kadar IL-1 jaringan.....	48
Tabel 5.3 Hasil uji deskriptif rerata kadar IL-1 dan uji <i>One way anova</i>	48
Tabel 5.4 Hasil uji <i>Post hoc LSD</i> kadar IL-1 jaringan.....	50
Tabel 5.5 Hasil uji deskriptif rerata kadar PDGF dan uji <i>Kruskal Wallis</i>	51
Tabel 5.6 Hasil uji deskriptif rerata kadar PDGF dan uji <i>One way anova</i>	52
Tabel 5.7 Hasil uji <i>Mann Whitney</i> kadar PDGF jaringan.....	54



ABSTRAK

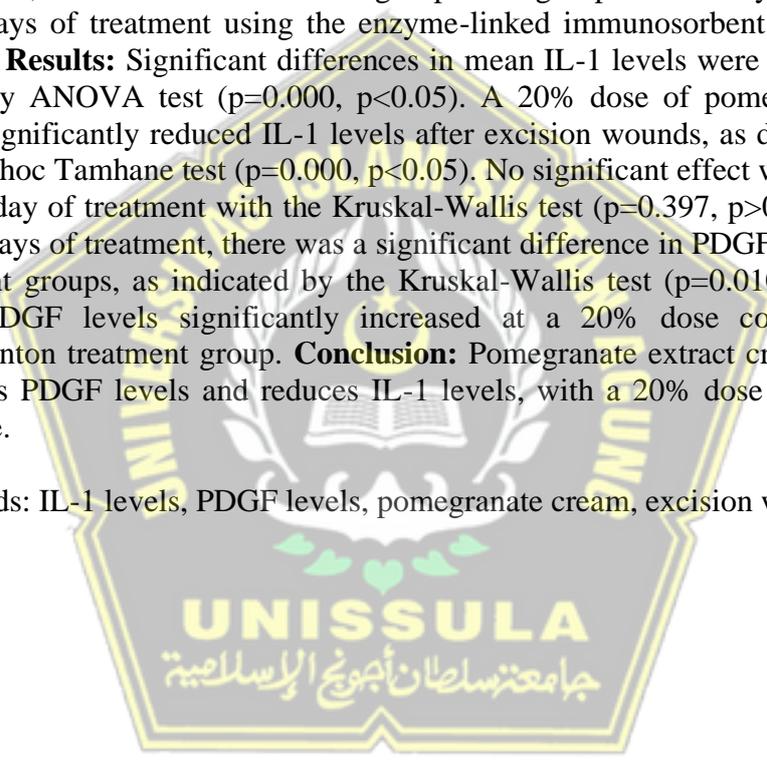
Latar Belakang: Penyembuhan luka memerlukan perawatan khusus dengan lebih baik berupa penutupan luka dan pengendalian infeksi, pertimbangan hasil penyembuhan luka menjadi sangat penting untuk meminimalisir terjadinya resiko Potensi produk alami dalam pengobatan luka yang memiliki sifat antioksidan, anti-inflamasi, dan antimikroba, dapat berinteraksi dalam berbagai tahap proses penyembuhan luka. Salah satunya buah delima (*Punica granatum*) yang meningkatkan proses perbaikan dan penurunan luas luka. **Tujuan** untuk melihat pengaruh pemberian krim ekstrak buah delima (*Punica Granatum*) terhadap kadar PDGF dan IL-1 pada tikus pasca luka eksisi. **Metode** Penelitian experimental *in-vivo* menggunakan subjek 48 ekor tikus *Wistar* yang dibagi 12 kelompok perlakuan yang dianalisis setelah hari ke 3 perlakuan dan setelah hari ke 7 perlakuan dengan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). **Hasil:** Terdapat perbedaan signifikan rerata kadar IL-1 dengan uji *One Way Anova* $p=0,000$ ($p<0,05$), hasil pemberian krim ekstrak buah delima dosis 20% memberikan pengaruh paling bermakna terhadap penurunan kadar IL-1 pasca luka eksisi dengan uji *Post hoc tamhane* menunjukkan $p=0,000$ ($p<0,05$). Pemberian krim ekstrak buah delima tidak memberikan pengaruh pada hari ke 3 setelah perlakuan dengan uji *Kruskal Wallis* $p=0,397$ ($<0,05$), sedangkan perlakuan setelah hari ke 7 terdapat perbedaan signifikan kadar PDGF antar kelompok perlakuan dengan uji *Kruskal Wallis* $p=0,010$ ($<0,05$), dimana rerata kadar PDGF pada dosis 20% mengalami peningkatan signifikan jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan *bioplacenton*. **Kesimpulan:** Pemberian krim ekstrak krim ekstrak buah delima meningkatkan kadar PDGF dan menurunkan kadar IL-1 dengan dosis krim ekstrak buah delima dosis 20% yang memiliki pengaruh paling efektif

Kata Kunci: Kadar IL-1, kadar PDGF, Krim buah delima, Luka eksisi

ABSTRACT

Background: Wound healing necessitates meticulous care, particularly in wound closure and infection control. Ensuring optimal wound healing outcomes is crucial to minimize risks. Natural products, known for their antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial properties, can positively influence various stages of the wound healing process. Pomegranate (*Punica granatum*) is one such natural product that enhances the repair process and reduces wound area. **Objective:** To evaluate the effect of pomegranate extract cream (*Punica granatum*) on PDGF and IL-1 levels in mice with excision wounds. **Method:** This experimental in-vivo study involved 48 Wistar rats, divided into 12 treatment groups. The groups were analyzed after 3 days and 7 days of treatment using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. **Results:** Significant differences in mean IL-1 levels were found using the One-Way ANOVA test ($p=0.000$, $p<0.05$). A 20% dose of pomegranate extract cream significantly reduced IL-1 levels after excision wounds, as demonstrated by the post hoc Tamhane test ($p=0.000$, $p<0.05$). No significant effect was observed on the 3rd day of treatment with the Kruskal-Wallis test ($p=0.397$, $p>0.05$). However, after 7 days of treatment, there was a significant difference in PDGF levels between treatment groups, as indicated by the Kruskal-Wallis test ($p=0.010$, $p<0.05$). The mean PDGF levels significantly increased at a 20% dose compared to the bioplacenta treatment group. **Conclusion:** Pomegranate extract cream effectively increases PDGF levels and reduces IL-1 levels, with a 20% dose being the most effective.

Keywords: IL-1 levels, PDGF levels, pomegranate cream, excision wounds



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyembuhan luka yang cepat dan memuaskan secara estetika menjadi tuntutan pasien, pertimbangan hasil penyembuhan luka menjadi sangat penting untuk meminimalisir terjadinya resiko.¹ Penyembuhan luka memerlukan perawatan khusus dengan lebih baik berupa penutupan luka dan pengendalian infeksi.¹ Kemajuan terkini dalam bidang seluler dan biologi molekuler telah memperluas pemahaman tentang proses biologis yang terlibat dalam perbaikan luka, regenerasi jaringan dan mempercepat penyembuhan.² Secara spesifik, *interleukin 1* (IL-1) memiliki peran penting dalam proses peradangan akut, yaitu merangsang pelepasan mediator-mediator inflamasi lainnya.³ *Platelet-derived growth factor* (PDGF) membantu mengoordinasikan berbagai tahap penyembuhan luka untuk memastikan penyembuhan yang efisien setelah terjadi luka.⁴ Perawatan kulit dasar dapat berperan untuk melindungi fungsi pelindung kulit, mengendalikan peradangan dan meningkatkan penyembuhan secara alami.¹ Potensi produk alami dalam pengobatan luka telah dilaporkan dalam banyak penelitian, produk yang memiliki sifat antioksidan, anti-inflamasi, dan antimikroba, dari berbagai sumber tanaman dapat berinteraksi dalam berbagai tahap proses penyembuhan luka.⁵⁻⁸ Salah satunya buah delima (*Punica granatum*) yang meningkatkan proses perbaikan dan penurunan luas luka.⁸ Ekstrak buah delima dalam penyembuhan luka terkait parameter molekuler masih sedikit yang melaporkan dan perlu dilakukan penelitian lebih mendalam.

Data Kementerian Kesehatan RI (2016) menunjukkan bahwa terdapat 41.034 kasus luka ringan atau rawat jalan dan sekitar 3.922 kasus rawat inap dengan luka berat akibat bencana. Obat antibakteri, antiinflamasi, dan antioksidan dapat mempercepat penyembuhan luka.⁹

Penelitian terdahulu dengan ekstrak buah delima dapat mempercepat penyembuhan luka, Selama tahap peradangan pada tiga hari pertama cedera, efek penyembuhan luka berhubungan dengan degradasi aktivitas sitokin yang dilepaskan oleh makrofag; TNF- α , IL-1, PDGF dan TGF- β . Selanjutnya, pada tahap proliferasi, PDGF dan TGF- β akan segera disekresi setelah cedera.¹⁰ Sejalan dengan penelitian tersebut, aktivitas penyembuhan luka yang diisolasi dengan menggunakan model luka eksisi dan luka sayatan, kekuatan penyembuhan luka tertinggi yang diamati adalah $201,83 \pm 4,98$ untuk salep punicalagin 10% BB terisolasi dalam model luka sayatan. Selain itu, pada model luka eksisi, pengurangan luka tertinggi diamati pada hari ke-15 sebesar $88 \pm 0,78$, yang optimal dibandingkan standar dengan pengurangan luka sebesar $92 \pm 0,91$. Hasilnya ekstrak metanol bubuk delima dapat digunakan sebagai fitokonstituen yang kuat dan bahan penyembuh luka.¹¹

Penyembuhan luka harus dioptimalkan agar kulit sembuh dengan cepat tanpa bekas luka, proses penyembuhan bervariasi dari satu prosedur ke prosedur lainnya, dan dari satu bagian tubuh ke bagian tubuh lainnya, setiap luka memerlukan perawatan khusus.¹ Luka yang tidak bisa disembuhkan menjadi tantangan bagi klinisi dan menanggung beban yang tidak sedikit bagi pasien. Epitelisasi luka merupakan komponen penting dari perbaikan luka.¹² IL-1 terlibat dalam regulasi respon imun dan inflamasi, serta berperan dalam pengaturan pertumbuhan dan diferensiasi sel-sel

dalam tubuh.³ Sedangkan PDGF merangsang proliferasi serta migrasi sel-sel penting seperti fibroblas yang berperan dalam pembentukan jaringan ikat dan mempercepat proses penyembuhan.⁴ Banyak tanaman memiliki khasiat yang sangat penting perannya dalam proses penyembuhan luka. Tumbuhan merupakan penyembuh yang lebih ampuh karena mempromosikan mekanisme perbaikan dengan cara alami. Terapi penggunaan ekstrak tanaman tidak hanya mempercepat proses penyembuhan tetapi juga menjaga estetika.¹³

Sejumlah tanaman Indonesia berpotensi untuk dieksplorasi sebagai kosmetik.¹⁴ Penggunaan ekstrak tumbuhan sebagai bahan dalam pembuatan kosmetik semakin diminati oleh konsumen yang lambat laun mulai peduli terhadap produk ramah lingkungan. Beberapa kandungan fitokimia dari buah delima termasuk polifenol, flavonoid, antosianosida, alkaloid, lignan, dan tri-terpen. *Punica granatum* dan komponennya telah diaplikasikan secara klinis dan mempunyai banyak efek farmakologis. Uji klinis aktivitas terapeutik *Punica granatum* terbukti dalam melawan peradangan, namun, mekanisme molekuler yang mendasari reaksi ekstrak buah delima masih perlu dilakukan analisis mendalam secara lebih lanjut.¹⁵ Penelitian ini berfokus pada pengaruh pemberian secara topikal krim ekstrak buah delima (*Punica Granatum*) pada tikus *Wistar* dengan model luka eksisi dengan menilai kadar PDGF dan kadar IL-1 terhadap proses penyembuhan pada kondisi luka akut.

1.2 Rumusan Masalah Penelitian

Bagaimana pengaruh pemberian krim ekstrak buah delima (*Punica Granatum*) terhadap kadar PDGF dan IL-1 pada tikus pasca luka eksisi?.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian krim ekstrak buah delima (*Punica Granatum*) terhadap kadar PDGF dan IL-1 pada tikus pasca luka eksisi

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui pengaruh pemberian krim ekstrak buah delima (*Punica Granatum*) dosis 10% dan 20% terhadap kadar PDGF pada tikus pasca luka eksisi antar kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol
- b. Untuk mengetahui pengaruh pemberian krim ekstrak buah delima (*Punica Granatum*) dosis 10% dan 20% terhadap kadar IL-1 pada tikus pasca luka eksisi antar kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Sebagai informasi ilmiah tentang bahan herbal potensial untuk dijadikan produk kosmetik yang dapat diaplikasikan secara topikal untuk mempercepat penyembuhan luka dengan menggunakan ekstrak buah delima (*Punica Granatum*).

1.4.2 Manfaat Praktis

Bahan ekstrak buah delima yang mudah didapat dengan harga yang terjangkau, serta potensi sebagai anti inflamasi yang baik untuk diproduksi dalam skala besar karena bahan baku yang mudah didapat.

1.5 Originalitas Penelitian

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian

Peneliti	Judul	Metode	Hasil Penelitian
Lukiswanto BS, Miranti A, Sudjarwo SA, Primarizky H, Yuniarti WM. ¹⁶	<i>Evaluation of wound healing potential of pomegranate (Punica granatum) whole fruit extract on skin burn wound in rats (Rattus norvegicus).</i>	Eksperimental, <i>In Vivo</i>	Salep <i>standardized pomegranate extract</i> (PSE) 10% efektif untuk pengobatan luka bakar derajat dua pada tikus. Hasil pembentukan kolagen yang baik dapat dikaitkan dengan proses penyembuhan, dan menciptakan mekanisme sinergis untuk mendukung proses penyembuhan luka bakar yang optimal.
Kumar A, Mishra R, Singh VD, Mazumder A, Mazumder R, Kumar A. ¹¹	Wound Healing Activity of Punicalin and Punicalagin Isolated from Punica granatum L.	Experimental <i>In Vitro</i> dan <i>In vitro</i>	Aktivitas penyembuhan luka punicalin dan punicalagin yang diisolasi dengan menggunakan model eksisi dan sayatan <i>in vitro</i> . Aktivitas ekstrak alkohol yang disiapkan dan bioaktif terisolasi dibandingkan dengan salep povidone-iodine standar 10% b/b. Kekuatan penyembuhan luka tertinggi yang diamati adalah $201,83 \pm 4,98$ untuk salep punicalagin 10% b/b terisolasi dalam model luka sayatan. Selain itu, pada model luka eksisi, % pengurangan luka tertinggi diamati pada hari ke-15 sebesar $88 \pm 0,78$, yang merupakan optimal dibandingkan standar dengan % pengurangan luka sebesar $92 \pm 0,91$. Hasilnya, punicalagin dan punicalin bioaktif yang diperoleh dari ekstrak metanol bubuk kulit Punica Granatum dapat digunakan sebagai fitokonstituen yang kuat dan bahan penyembuh luka.

Nirwana I. ¹⁷	<i>Application of pomegranate (Punica granatum Linn.) fruit extract for accelerating post-tooth extraction wound healing</i>	Eksperimen <i>In vivo</i>	Ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dan kontrol; anggota kelompok perlakuan yang menerima ekstrak buah delima di soketnya menunjukkan ekspresi FGF-2 dan TGF- β yang tinggi. Menunjukkan bahwa jika ekstrak buah delima diberikan pada luka gigi pasca pencabutan C. cobaya, ekspresi FGF-2 dan TGF- β meningkat pada hari ke-4, sehingga mempercepat penyembuhan luka.
Nema N, Arjariya S, Bairagi SM, Jha M, Kharya MD. ¹⁸	<i>In Vivo Topical Wound Healing Activity of Punica Granatum Peel Extract on Rats.</i>	Eksperimen, <i>In vitro</i> dan <i>In vivo</i>	Ekstrak methanol <i>Punica granatum</i> , berbentuk salep dengan dua konsentrasi (10% dan 15% b/b ekstrak dalam basis salep sederhana) dievaluasi untuk potensi penyembuhan luka dalam model luka eksisi pada tikus. Hasilnya sebanding dengan obat standar salep Nitrofurazone. kemampuan kontraksi luka salep ekstrak 10% dan 15% (97,8%, 98,4%) secara signifikan ($P < 0,05$) lebih besar dibandingkan kontrol. Waktu penutupan luka lebih singkat dan persentase kontraksi luka jauh lebih besar pada kelompok yang diberi salep ekstrak 15% b/b. Pada hari ke 18 terjadi kontraksi 100% yang hampir mirip dengan kelompok salep nitrofurazon. Kelompok hewan salep ekstrak 10% b/b menunjukkan kontraksi luka yang signifikan mulai hari ke 18 dan seterusnya dan mencapai 100% dengan waktu penutupan luka hari ke 20.
Nirwana I, Rachmadi P, Rianti D. ¹⁹	<i>Potential of pomegranate fruit extract (Punica granatum Linn.) to increase vascular endothelial growth factor</i>	Experimen, <i>In Vivo</i>	Aktivitas ekstrak buah delima ditentukan. Metode imunohistokimia digunakan untuk melihat ekspresi VEGF dan PDGF. Ekspresi VEGF dan PDGF pada luka bekas pencabutan gigi ditingkatkan dengan pemberian ekstrak buah delima. Dengan memantau peningkatan ekspresi VEGF dan PDGF, dua indikator proses penyembuhan luka,

*and platelet-
derived growth
factor
expressions on
the post-tooth
extraction
wound of
Cavia cobaya.*



BAB II

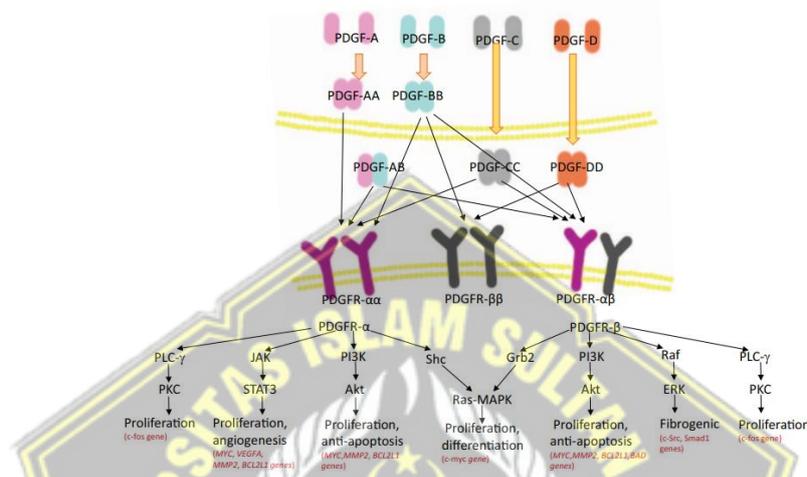
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 PDGF (*Platelet derived growth factor*)

PDGF adalah sebuah protein yang terdiri dari dua rantai peptida yang berbeda, terhubung oleh ikatan disulfida, ada dalam bentuk homodimer (PDGF-AA atau PDGF-BB) atau heterodimer (PDGF-AB).²⁰ Empat rantai polipeptida (PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C, dan PDGF-D) membentuk monomer PDGF, yang tidak aktif. Keempat rantai polipeptida mengalami dimerisasi untuk menghasilkan isoform homodimerik (PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-CC, dan PDGFDD). Dengan menempel pada reseptor trans membran tirosin kinase (PDGFR), yang memiliki isoform homodimerik dan heterodimerik (PDGFR- $\alpha\alpha$, PDGFR- $\beta\beta$, dan PDGFR- $\alpha\beta$), PDGF berikatan dengan sel dan berdampak pada sel tersebut.^{21,22} PDGFR terdiri dari domain tirosin kinase intraseluler dan domain pengikat ekstraseluler. Hanya PDGFR- $\alpha\alpha$ yang terikat oleh PDGF-AA, sedangkan PDGF-BB berikatan dengan semua protein lainnya. Persinyalan PDGFR- $\alpha\alpha$ dan PDGFR- $\alpha\beta$ adalah PDGF-AB dan PDGF-CC. Selanjutnya, PDGF-DD menempel pada PDGFR- $\beta\beta$ dan PDGFR- $\beta\beta$. Autofosforilasi dan aktivasi residu tirosin sitoplasma dilakukan dengan mengikat domain ekstraseluler.²³

Faktor pertumbuhan PDGF terdapat dalam trombosit darah, sel glial, fibroblas, dan sel otot polos. PDGF merangsang produksi gen baru, kemotaksis, dan proliferasi monosit, makrofag, dan fibroblas yang semuanya penting untuk proses perbaikan jaringan.²³ Gen PDGF mengkodekan reseptor tirosin kinase, sejenis reseptor permukaan sel yang mentransmisikan sinyal dari permukaan sel ke dalam

sel melalui transduksi sinyal. PDGF dan reseptornya (PDGFR) mempunyai peranan yang sangat penting dalam pertumbuhan dan pembelahan sel, pembentukan pembuluh darah, proliferasi sel mesenkim, migrasi sel, dan respon terhadap kerusakan.²¹



Gambar 2.1 Aktivasi jalur PDGF.

Berbagai jenis sel, seperti yang ada di jaringan ikat, perluasan sistem saraf, penyembuhan luka, dan perbaikan jaringan dalam tubuh, bergantung pada PDGF untuk mendorong proliferasi sel.^{23,24} Aktivasi PDGF menyebabkan peningkatan angiogenesis, migrasi, dan proliferasi sel melalui jalur Akt, MAPK, dan kalsium, untuk penyembuhan luka yang efektif dan mengurangi kemungkinan jaringan parut, PDGF sangat penting. PDGF berfungsi sebagai agen kemotaktik untuk neutrofil, monosit, dan fibroblas, yang penting untuk permulaan dan perkembangan penyembuhan luka. Perkembangan bekas luka dapat dikurangi dengan PDGF dengan menghalangi diferensiasi fibroblas menjadi miofibroblas.²⁵

2.1.1 Mekanisme aktivasi PDGF

Ketika terjadi cedera atau luka, granula alfa pada trombosit akan

melepaskan PDGF ke area luka bersamaan dengan faktor pertumbuhan lainnya, seperti TGF- β , TGF- α , bFGF, IGF-1, dan VEGF⁵⁰.

Untuk memulai respon inflamasi, neutrofil dan monosit diambil dari sirkulasi oleh PDGF dan TGF- β . Untuk memulai respon inflamasi, neutrofil dan monosit diambil dari sirkulasi oleh PDGF dan TGF- β . Secara bersamaan, VEGF, TGF- α , dan bFGF merangsang sel endotel untuk memulai proses angiogenesis. Selanjutnya, protein matriks ekstraseluler yang disebut glikosaminoglikan dan kolagen diproduksi oleh fibroblas yang telah distimulasi dan ditarik ke lokasi luka oleh PDGF. Protein ini memfasilitasi migrasi sel dan kontak dengan kerangka matriks. Oleh karena itu, hemostasis, deposisi trombosit di lokasi cedera, dan interaksi antara mediator terlarut dan faktor pertumbuhan serta matriks ekstraseluler mengatur tahapan untuk aktivitas penyembuhan selanjutnya.^{21,22} Proliferasi (pembelahan dan pertumbuhan) dan migrasi (pergerakan) sel-sel penting, termasuk fibroblas, yang membantu pembentukan jaringan ikat dan mempercepat proses penyembuhan, sering kali dirangsang oleh PDGF. Selain itu, PDGF merangsang produksi kolagen, elemen penting dalam perkembangan struktur luka. Untuk menjamin penyembuhan luka atau kerusakan yang efektif, PDGF membantu mengoordinasikan berbagai tahapan penyembuhan luka.⁴

Faktor pertumbuhan yang dilepaskan dari butiran α yang disekresikan oleh trombosit di lokasi luka termasuk transformasi faktor pertumbuhan- β (TGF- β), faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF), faktor pertumbuhan fibroblas (FGF), faktor pertumbuhan turunan trombosit (PDGF), dan faktor pertumbuhan seperti insulin (IGF) setelah cedera tendon akut. PDGF mendorong angiogenesis

dengan meningkatkan produksi integrin dan VEGF, yang penting dalam migrasi sel otot polos. Neutrofil, makrofag, dan fagosit yang memecah dan menghilangkan sisa-sisa jaringan serta tenosit yang menembus lokasi luka dan memperbaiki jaringan yang terluka semuanya dipengaruhi oleh sifat kemotaktik dan mitogenik PDGF. Oleh karena itu, karakteristik biomekanik dari penyembuhan tendon, deposisi kolagen, dan ikatan silang dapat memperoleh manfaat dari pemberian PDGF pada lokasi luka. Selain itu, dengan memasok elemen ekstrinsik untuk perbaikan tendon, pemberian PDGF juga dapat meningkatkan vaskularisasi untuk sementara waktu.²⁰

Melalui jalur Akt, MAPK, dan kalsium, peningkatan migrasi sel, proliferasi, dan angiogenesis ditimbulkan oleh aktivasi PDGF. Penyembuhan luka yang efektif dan mengurangi kemungkinan jaringan parut bergantung pada PDGF. Dengan sifat kemotaktiknya, PDGF memainkan peran penting dalam permulaan dan kemajuan penyembuhan luka pada neutrofil, monosit, dan fibroblas. Perkembangan bekas luka dapat dikurangi dengan PDGF dengan mencegah fibroblas berdiferensiasi menjadi myofibroblast.²⁵

Pensinyalan JAK, STAT, Raf/ERK protein kinase terregulasi ekstraseluler (ERK), *fosfatidylinositol* 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (PKB, Akt)/target mamalia rapamycin (mTOR), homologi Src dan Kolagen (Shc)/Ras -protein kinase teraktivasi mitogen (MAPK), protein terikat reseptor faktor pertumbuhan 2 /Ras-MAPK, dan *fosfolipase C- γ* (PLC- γ)/protein kinase C (PKC). Setelah itu, gen PDGF menjadi target khusus dari kaskade sinyal rumit yang berfungsi sebagai faktor transkripsi.²³ Faktor eksternal termasuk hipoksia, hiperglikemia, trombin,

dan sitokin lainnya mengontrol produksi PDGF. Selain itu, aktivasi autokrin sel tumor dapat menyebabkan induksi PDGF.⁴

2.2 IL-1 (*Interleukin-1*)

IL-1 adalah salah satu jenis sitokin yang diproduksi oleh sel-sel sistem kekebalan tubuh, seperti sel darah putih, sel dendritik, limfosit, dan makrofag, serta sel-sel non-imun seperti sel epitel, sel fibroblas, sel endotel, dan sel otot polos. Selain mengendalikan respons imunologi dan inflamasi, IL-1 juga memengaruhi cara sel membelah dan berkembang di seluruh tubuh.²⁶ Sel menghasilkan sitokin yang dapat memiliki efek anti atau proinflamasi. Sitokin diklasifikasikan menjadi limfokin (berasal dari limfosit), monokin (berasal dari monosit), dan interleukin (berasal dari leukosit) sesuai dengan asalnya.²⁶

IL-1 memainkan peran penting dalam proses inflamasi akut dengan menginduksi produksi prostaglandin, TNF- α , IL-6, dan IL-8, serta mediator inflamasi lainnya.³ Lebih lanjut, IL-1 terlibat dalam regulasi respons imunologi tertentu, termasuk peningkatan regulasi molekul MHC (major histocompatibility complex) dan stimulasi sel T. Sistem kekebalan diatur oleh sejumlah faktor, termasuk infeksi, peradangan, dan stres oksidatif. Sitokin IL-1, salah satu mediator utama dalam respons inflamasi, memiliki berbagai efek biologis pada sel lain, termasuk aktivasi sel T dan B, proliferasi sel imun, serta produksi sitokin dan mediator lainnya. Berbagai kelainan patologis, termasuk beberapa penyakit autoimun, kanker, artritis reumatoid, aterosklerosis, peradangan kronis, dan penyakit autoimun, dapat menyebabkan peningkatan ekspresi IL-1.^{26,27}

Dibandingkan dengan sitokin lain, secara umum diketahui bahwa 11 jenis

interleukin berhubungan langsung dengan peradangan lanjut. Interleukin-1, misalnya, berkontribusi terhadap imunitas didapat peningkatan respons imun terhadap antigen asing dan imunitas nonspesifik peningkatan resistensi terhadap infeksi. berfungsi bersama-sama untuk melawan peradangan.²⁷

IL-1 memiliki dua bentuk utama yang berperan penting dalam respon inflamasi, yaitu IL-1 α dan IL-1 β .³ Enzim protease yang terlibat dalam peradangan dan kematian sel, seperti caspase dan calpain, diaktifkan untuk membuat sitokin ini. Pemrosesan dan pelepasan IL-1 β terutama dipengaruhi oleh regulasi caspase-8 selama apoptosis. Sebaliknya, nekroptosis adalah penyebab pemrosesan dan pelepasan IL-1 α , namun tidak bergantung pada pemrosesan dan pelepasan IL-1 β .²⁸ Sejumlah penelitian telah dilakukan mengenai fungsi IL-1 β dalam mendukung sistem kekebalan tubuh terhadap infeksi pada gangguan autoinflamasi. Sedangkan calpain adalah protease sistein diaktifkan oleh kalsium yang memiliki peran utama dalam pemrosesan prekursor IL-1 α menjadi bentuk molekul yang matang.³

Respon inflamasi dimodulasi oleh antagonis reseptor IL-1 (IL-1Ra), yang menghambat kerja IL-1 α dan IL-1 β . Ada dua bentuk interleukin-1 (IL-1): IL-1 α dan IL-1 β . Variasi ini terjadi dalam komposisi, peran, dan cara bertindak.³ Banyak jenis sel, seperti sel imunologi dan epitel, menghasilkan IL-1 α , yang sering menempel pada membran sel target. Hematopoietin 1, atau IL-1 α , adalah pemain kunci dalam pengendalian respons imun dan dikodekan oleh gen IL1A. Memiliki fungsi fisiologis, metabolisme, dan hematologi.²⁷ Setelah dihasilkan sebesar 33 kDa, interleukin 1 α (IL-1 α) diproses secara proteolisis menjadi 17 kDa. Jalur aktivasi TNF- α adalah tempat IL-1 α ditemukan dan berinteraksi melalui reseptor. Sementara

itu, proprotein IL-1 β dikodekan oleh gen IL1B. yang caspase 1 secara proteolitik diubah menjadi bentuk aktif atau matang.²⁶

Mekanisme IL-1 α melibatkan pengikatan langsung pada reseptor IL-1 pada sel target, mengaktifkan jalur sinyal intraseluler yang mengarah pada produksi berbagai mediator inflamasi.²⁹ Sementara itu, sebagai reaksi terhadap infeksi atau cedera jaringan, sel imun termasuk sel dendritik dan makrofag melepaskan IL-1 β ke dalam aliran darah. Setelah dilepaskan, IL-1 β berikatan dengan reseptor IL-1 pada sel target dan memulai kaskade sinyal yang sebanding dengan IL-1 α . Selain itu, IL-1 β memiliki kemampuan untuk mendorong sintesis protein pengikat reseptor IL-1 (IL-1Ra), yang berfungsi sebagai antagonis reseptor IL-1 dan menghentikan efek IL-1 β pada sel target.²⁶ Menginduksi efek proinflamasi, IL-1 α dan IL-1 β bekerja secara sinergis dengan mediator lain seperti TNF α .²⁹

2.3 Buah delima (*Punica granatum*)

Delima merupakan salah satu buah terkenal yang memiliki sejarah jangka panjang di Iran dan Timur Tengah. Tanaman ini kebanyakan mudah tumbuh di pinggiran gurun dengan musim panas yang kering.

Taksonomi dari pohon delima secara ilmiah digolongkan sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i> ,
Filum	: <i>Tracheophyta</i> ,
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> ,
Ordo	: <i>Myrtales</i> ,
Family	: <i>Lythraceae</i> ,
Genus	: <i>Punica</i> ,
Spesies	: <i>Punica granatum</i> . ³⁰

Delima tumbuh pada berbagai kondisi iklim dan dapat beradaptasi pada berbagai jenis tanah. Namun tanaman ini sensitif terhadap tanah yang memiliki drainase rendah dan pertumbuhannya dalam kondisi ini rendah dan kualitas produknya buruk menurun. Kondisi tanah terbaik untuk membudidayakan buah delima adalah tanah liat berpasir dalam dan pertumbuhan, kinerja dan kualitas produk berada di daerah dengan musim yang panas dan panjang. Produk ini dapat ditanam hingga ketinggian sekitar 1600 m di atas permukaan laut.³¹



Gambar 2.2 Buah delima

Beberapa spesies produk ini tumbuh dengan baik di ketinggian rendah dan beberapa lainnya di ketinggian yang lebih tinggi. Salah satu dari Keterbatasan terpenting dalam budidaya buah delima adalah sifatnya kepekaan terhadap dingin. Buah delima akan rusak pada suhu di bawah 12°C sehingga buah delima yang manis lebih sensitif dibandingkan buah delima yang asam, buah delima membutuhkan musim panas yang panjang dan terik untuk matang.³¹

2.3.1 Morfologi dan Ekofisiologi Delima

Delima merupakan tanaman perdu yang tingginya mencapai 1,5 sampai 5

m, dengan cabangnya kurang lebih tidak beraturan dan berduri serta daunnya mengkilat muncul sebagai semak daun di daerah beriklim sedang dan selalu hijau di daerah dingin.³² *Punica granatum* L termasuk dalam famili *Punicaceae* dan merupakan famili tumbuhan terkecil yang mencakup 1 genus dan 2 spesies, antara lain sebagai berikut: *Punica granatum* (delima yang dapat dimakan) berasal dari Iran dan Mediterania wilayah, dan *Punica protopunica* (tidak dapat dimakan) bersifat endogen *Pulau Socotra* di Samudera Pasifik. Ciri-ciri lainnya adalah: Daun terlihat timbal balik pada cabang yang baru tumbuh dan menyatu dalam spora. Bunga: 1-5 kuntum, salah satunya terminal dan sisanya marginal, pendek atau tanpa tangkai, warnanya merah dan jarang berwarna kuning atau putih, tidak berbau, dan berkelamin dua. Buah: Balausta berwarna merah muda sampai kuning kehijauan dan jarang pada beberapa spesies berwarna ungu tua. Diameternya 5 hingga 20 cm dan beratnya bervariasi dari kurang dari 200 g hingga lebih dari 800 gram. Benih: Benih diproduksi dalam jumlah banyak, berbentuk segitiga, bebas albumin, dan tertanam dalam aril.³¹

2.3.2 Kandungan Buah Delima

Metabolit di berbagai bagian buah delima dan pohonnya mengandung berbagai macam gula, asam organik, polifenol, flavonoid, antosianin, asam lemak, alkaloid, vitamin, dan sebagainya. Gula utama termasuk dalam ekstrak delima terdiri dari glukosa, fruktosa, sukrosa, dan maltosa, sedangkan vitaminnya adalah C, B1, B2, dan beta karoten. Selain itu, asam malat, asam fumarat, asam oksalat, asam suksinat, asam sitrat, dan asam tartarat termasuk yang utama asam organik pada delima Alkaloid yang terdapat pada kulit buah *pomegranat* antara lain asam

ellagic, asam galat, asam klorogenat, asam sinamat, asam hidroksi protocatechuic, hidroksi benzoate asam, asam *caffeic*, asam ferulat, asam kumarat, asam p-kumarat, dan asam *o-coumaric*, *peletierine*, *isopelletierine*, *methylpelle tierine*, *pseudopelletierine*, *punicalagin*, *punicalin*, *phloridzin*, *quercetin*, dan *catchin*.³¹

Flavonoid delima adalah luteolin, kaempferol, dan narigenin ditemukan dalam bentuk glikosida. Warna buah delima diinduksi oleh senyawanya antosianin. Antosianin adalah glikosida yang melepaskan molekul glukosa dan cincin glikon (antosianidin), enam antosianin bertanggung jawab atas warna merah warna bagian delima yang dapat dimakan berasal dari pelargonidin (warna orange dan merah), *cyanidin* (merah dan merah tua warna), dan *delphinidin* (warna biru dan ungu), *3,5-diglukosida delphinidin*, *3-glikosida delphinidin*, *3,5 diglukosida sianidin*, *3-glikosida sianidin*, *3,5-diglukosida pelargonidin*, dan *pelargonidin 3-glikosida*.³¹

Selama buah delima matang, warnanya buah diubah secara bertahap. Namun, transformasi ini masuk warnanya sangat lambat dan meningkat setelah tahap tengah pematangan. Pada tahap awal perkembangan, jumlahnya antosianin diglukosida nampaknya lebih tinggi dibandingkan bentuk mono glukosida; namun, trennya berubah berbanding terbalik akhir tahap perkembangan dan pematangan. Proporsi dan jenis antosianin juga bervariasi bergantung pada kultivar yang berbeda. Seiring pertumbuhan buah, aktivitas antioksidan berkurang karena penurunan kadar askorbat dan fenolik asam.³³

Aktivitas antioksidan yang dipengaruhi oleh senyawa fenolik dan asam askorbat bervariasi antar varietas tanaman delima.³⁴⁻³⁶ Dalam kultivar buah

delima yang paling banyak dipelajari memiliki kandungan lemak yang dominan asam adalah linolenat (74% hingga 88%) dan asam linoleat (5% hingga 16%). Selain itu, beberapa asam lemak, termasuk asam oleat, asam palmitat, asam stearat, asam palmitoleat, asam arakidonat, asam laurat, dan asam kaprilat diidentifikasi dalam varietas yang berbeda dari delima.^{31,32}

2.4 Luka

Integritas jaringan biologis, seperti kulit, selaput lendir, dan organ, terganggu oleh luka. Cedera dapat disebabkan oleh berbagai jenis trauma yang menyebabkan kerusakan struktural dan hilangnya fungsi.³⁷

2.4.1 Klasifikasi Luka

Ciri-ciri anatomi, jenis, masa penyembuhan, dan proses penyembuhan semuanya dapat digunakan untuk mengkategorikan luka. Secara anatomi, ada tiga jenis luka yaitu luka dengan ketebalan penuh, luka dengan ketebalan lokal, dan luka superfisial. Luka yang diklasifikasikan sebagai luka superfisial meluas hingga ke epidermis, lapisan kulit terluar, dan kadang-kadang bahkan sampai ke dermis. Luka yang mengenai dermis dan epidermis disebut luka ketebalan lokal. Sebaliknya, luka dengan ketebalan penuh mencakup seluruh lapisan kulit, termasuk dermis, lapisan lemak, fascia, dan epidermis.³⁸

Luka berdasarkan sifatnya dibagi menjadi luka abrasi, kontusio, insisi, laserasi, tembak, puncture, dan lain-lain. Luka abrasi yang disebut juga dengan lecet adalah luka yang tidak menembus jaringan subkutan karena adanya gesekan antara luka dengan benda lain, biasanya benda tumpul. Memar atau memar adalah cedera umum yang disebabkan oleh pukulan benda tumpul yang

merusak kapiler. Luka akibat sayatan benda tajam disebut dengan luka sayatan. Luka yang tepinya tidak rata disebut laserasi. Luka tembak merupakan luka yang terjadi akibat benda seperti peluru, dan memiliki luka masuk dan luka keluar. Sebaliknya, luka tusuk timbul dari lesi kecil yang sulit dilihat di bagian dasarnya. Luka tusuk adalah luka kecil yang sulit dilihat yang dasarnya tertusuk paku atau benda tajam lainnya.

Luka dikategorikan menjadi luka dengan penyembuhan primer, penyembuhan sekunder, dan penyembuhan tersier. Luka dengan penyembuhan primer (*healing by primary intention*) merupakan penyembuhan pada luka dengan kondisi yang bersih dan berlangsung dari internal ke eksternal. Luka penyembuhan primer biasanya terjadi pada penyembuhan luka insisi sehingga tepi luka dapat menyatu kembali, tampak bersih, serta tidak ada jaringan yang hilang. Luka dengan penyembuhan primer cenderung memerlukan waktu yang singkat untuk sembuh dan menutup lebih cepat dengan bantuan penjahitan.

Penyembuhan luka sekunder (*healing by secondary intention*), sebagian jaringan luka hilang, luka kotor dan lama untuk sembuh, fase penyembuhan akan dibiarkan secara alamiah sehingga proses penyembuhan luka akan mulai setelah terbentuknya jaringan granulasi di dasar luka dan sekitarnya. Sedangkan pada penyembuhan luka tersier (*delayed primary healing*), penyembuhan luka berlangsung lambat karena tidak dapat dilakukan penjahitan luka secara langsung akibat terdapat infeksi atau kontaminasi, luka dibiarkan terlebih dahulu selama 4-7 hari dan dilanjutkan penjahitan.²³

Luka dibedakan menjadi dua kategori berdasarkan lama waktu

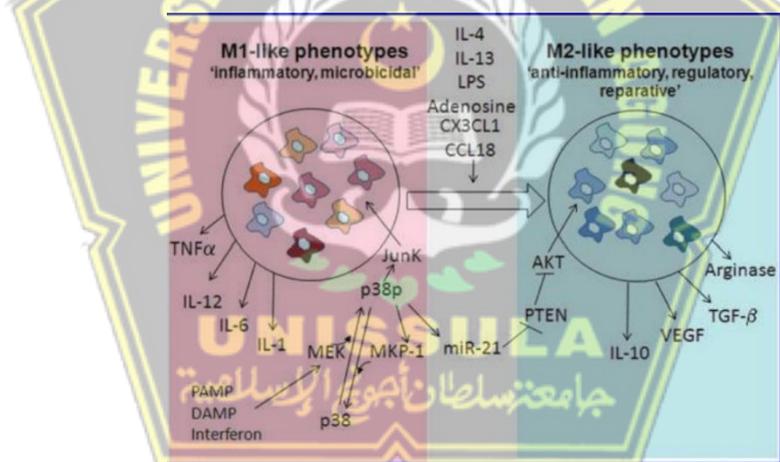
penyembuhannya: luka akut dan luka kronis. Luka akut akan sembuh sesuai dengan proses penyembuhan luka secara fisiologis, sehingga memungkinkan waktu pemulihan yang dapat diprediksi. Dalam dua hingga tiga minggu, lukanya akan sembuh dengan sedikit atau tanpa bekas luka. Luka akut sebagian besar sembuh melalui penyembuhan primer, meskipun luka yang ujung-ujungnya tidak dapat disambung juga dapat melalui fase penyembuhan sekunder. Selama lebih dari empat hingga enam minggu, tidak ada gejala penyembuhan pada luka kronis. Penyakit ganas, tukak dekubitus, tukak kaki, dan tukak yang disebabkan oleh kondisi metabolik seperti diabetes melitus adalah contoh luka kronis.

Luka eksisi adalah luka yang disebabkan oleh pengirisan jaringan dengan benda tajam. Luka eksisi terjadi pada lapisan dermis kulit. Jenis luka tertentu yang dikenal sebagai luka eksisi adalah luka yang terjadi pada lapisan luar dermal, dipotong pada kedalaman berbeda, dan memiliki tepi yang konsisten. Luka ini biasanya disebabkan oleh sengatan panas, tekanan, kecelakaan, sinar matahari, bahan kimia, atau trauma berulang.³⁹

2.4.2 Mekanisme molekuler pada Luka

Jalur pensinyalan intraseluler melibatkan p38 dan miR-21. Secara berbeda, miR-21 mempengaruhi beberapa aktor seluler yang terlibat dalam penyembuhan luka. *Faktor nuklir kappa B* (NF- κ B), dan aktivator protein 1 (AP1) terdapat dalam promotor. Peralihan dari fenotip inflamasi ke anti-inflamasi pada makrofag sebagian besar bergantung pada miR-21. PAMP dan DAMP mengaktifkan jalur stres p38/Jun, yang memicu pelepasan sitokin proinflamasi termasuk TNF, IL-1, dan IL-6 dan menyebabkan peradangan.⁴⁰

Peran makrofag dalam penyembuhan luka, pada awal proses penyembuhan, makrofag menghasilkan sitokin inflamasi yang mengaktifkan dan menarik lebih banyak leukosit, sehingga mengintensifkan respon inflamasi. Selain itu, makrofag memainkan peran penting dalam menghilangkan sel-sel apoptosis dari luka dan mendisinfeksi luka dari mikroorganisme, sehingga membantu mengurangi peradangan dan memulai fase proliferasi penyembuhan luka. Makrofag mengalami perubahan fenotipik menjadi keadaan anti-inflamasi, regulasi, dan reparatif seiring dengan perubahan lingkungan tempat tidur luka. Pergeseran respons ini mengaktifkan keratinosit, fibroblas, dan sel endotel untuk memfasilitasi regenerasi jaringan.⁴⁰



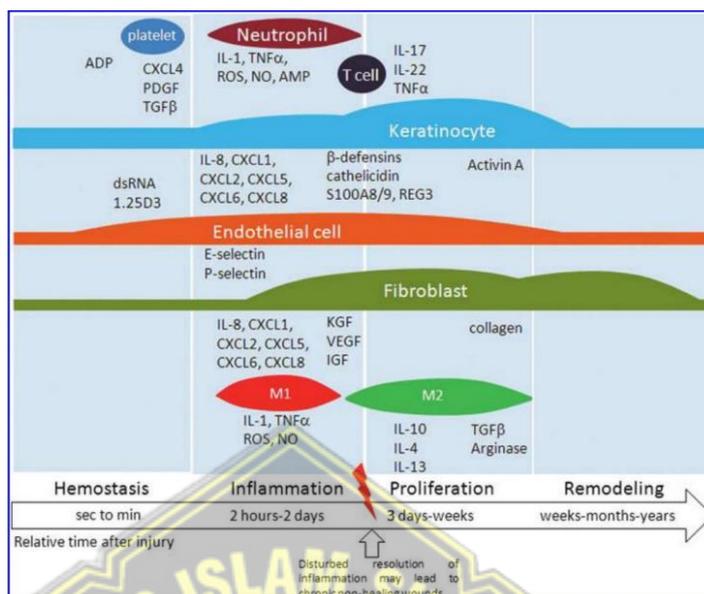
Gambar 2.3 Peran makrofag dalam penyembuhan luka.⁴⁰

Makrofag memfasilitasi peralihan proses penyembuhan ke tahap proliferasi. Transformasi makrofag ini dari M1 ke M2 difasilitasi oleh sejumlah jalur, termasuk aktivasi TLR, IL-4, IL-13, pensinyalan adenosin, CXCL1, dan CCL18. Selain itu, miRNA-21 menargetkan fosfatase dengan motif tensin (PTEN), dan akibatnya penurunan PTEN memperpanjang aktivasi AKT, yang menghambat peradangan dan mendorong aktivitas anti-inflamasi.⁴⁰

2.4.3 Fase penyembuhan luka

Target terapi baru untuk mendukung respons penyembuhan luka dapat ditemukan dengan mengidentifikasi komponen seluler dan molekuler yang menghambat penyembuhan luka, seperti sitokin proinflamasi, disregulasi makrofag, dan ketidakseimbangan molekul imunoregulasi seperti adenosin dan *nitric oxide* (NO).⁴⁰

Peradangan dipicu oleh agregasi trombosit, yang juga melepaskan ADP, PDGF, TGF- β , dan CXCL4. Sel-sel lokal, seperti keratinosit dan fibroblas, diaktifkan, begitu pula kaskade imunologis. Jenis sel utama epidermis, keratinosit, mengeluarkan peptida dan protein antimikroba (AMP) serta sitokin proinflamasi. Dengan membawa neutrofil dan makrofag ke dalam dasar luka, respon imun ini bekerja sama untuk membersihkan dasar luka. Sel pembunuh profesional mikroba, neutrofil, dan makrofag melepaskan AMP, NO, dan spesies oksigen reaktif (ROS). Sementara itu, selektin E dan P diekspresikan oleh sel endotel di vena dermal, yang mengarahkan leukosit ekstrasvasi untuk menggelinding dan menempel pada dasar luka. Melalui produksi IL-17, IL-22, dan TNF- α , yang meningkatkan respons pertahanan tubuh, baik sel T yang tinggal di kulit maupun sel T yang menyerang berkontribusi pada tahap inflamasi. Selain itu, limfosit T yang tinggal di kulit memiliki kemampuan untuk menciptakan faktor pertumbuhan yang mendorong proliferasi keratinosit.⁴⁰



Gambar 2.4 Tahap penyembuhan luka.

Peradangan mereda setelah keratinosit, neutrofil, dan makrofag diaktifkan dan lesi disterilkan. Penutupan luka kini dirangsang oleh pertumbuhan fibroblas dan keratinosit. Fase ini diatur oleh perubahan lingkungan mikro sitokin luka dan transisi halus dari aktivitas inflamasi ke aktivitas reparatif. Makrofag M1, yang berkembang baik sepanjang fase inflamasi, berubah menjadi fenotip M2 anti-inflamasi dan reparatif. Sitokin dan senyawa lain memiliki kontrol yang kuat terhadap transisi ini. Fibroblas dirangsang oleh makrofag M2 untuk melepaskan faktor pertumbuhan yang mendorong migrasi dan proliferasi keratinosit.⁴⁰

2.5 Pengaruh krim ekstrak buah delima terhadap kadar PDGF dan IL-1 pada luka eksisi

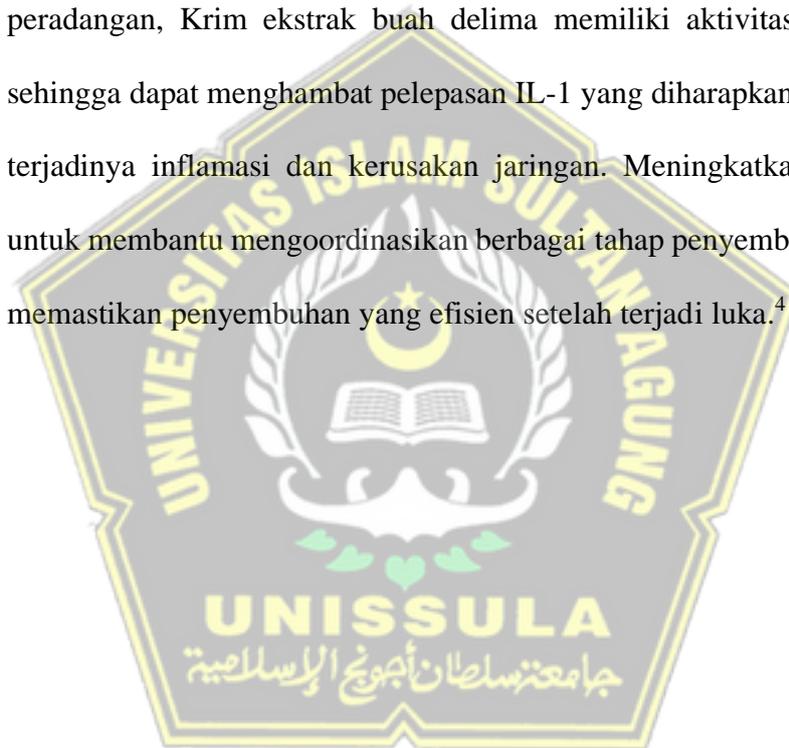
Proses penyembuhan luka yang kompleks karena melibatkan aktivasi beberapa jenis sel, sintesis beragam sitokin dan kemokin, serta variabel lain

yang memengaruhi respons imun. Potensi ketidaksesuaian antara molekul pemberi sinyal pro dan anti inflamasi menyebabkan reaksi inflamasi yang sangat kuat dan berkepanjangan sehingga menyebabkan jaringan parut patologis.⁴¹ Peradangan dipicu oleh agregasi trombosit, yang juga melepaskan ADP, PDGF, TGF- β , dan CXCL4. Sel-sel lokal, seperti keratinosit dan fibroblas, diaktifkan, begitu pula kaskade imunologis. Jenis sel utama epidermis, keratinosit, mengeluarkan peptida dan protein antimikroba (AMP) serta sitokin proinflamasi. Makrofag memfasilitasi peralihan proses penyembuhan ke tahap proliferasi. Transformasi makrofag ini dari M1 ke M2 difasilitasi oleh sejumlah jalur, termasuk aktivasi TLR, IL-4, IL-13, pensinyalan adenosin, CXCL1, dan CCL18. Selain itu, miRNA-21 menargetkan fosfatase dengan motif tensin (PTEN), dan akibatnya penurunan PTEN memperpanjang aktivasi AKT, yang menghambat peradangan dan mendorong aktivitas anti-inflamasi.⁴⁰

Epitelisasi luka merupakan komponen penting dari perbaikan luka.¹² IL-1 terlibat dalam regulasi respon imun dan inflamasi, serta berperan dalam pengaturan pertumbuhan dan diferensiasi sel-sel dalam tubuh.³ Sedangkan PDGF merangsang proliferasi serta migrasi sel-sel penting seperti fibroblas yang berperan dalam pembentukan jaringan ikat dan mempercepat proses penyembuhan.⁴ Banyak tanaman memiliki khasiat yang sangat penting perannya dalam proses penyembuhan luka. Tumbuhan merupakan penyembuh yang lebih ampuh karena mempromosikan mekanisme perbaikan

dengan cara alami. Terapi penggunaan ekstrak tanaman tidak hanya mempercepat proses penyembuhan tetapi juga menjaga estetika.¹³

Kandungan fitokimia dari buah delima termasuk polifenol, flavonoid, antosianosida, alkaloid, lignan, dan tri-terpen. Komponennya telah diaplikasikan secara klinis dan mempunyai banyak efek farmakologis. Uji klinis aktivitas terapeutik *Punica granatum* terbukti dalam melawan peradangan, Krim ekstrak buah delima memiliki aktivitas anti inflamasi sehingga dapat menghambat pelepasan IL-1 yang diharapkan dapat menekan terjadinya inflamasi dan kerusakan jaringan. Meningkatkan kadar PDGF untuk membantu mengoordinasikan berbagai tahap penyembuhan luka untuk memastikan penyembuhan yang efisien setelah terjadi luka.⁴



BAB III
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS
PENELITIAN

3.1 Kerangka teori

Luka eksisi terjadi akibat terpotongnya jaringan oleh goresan benda tajam.⁴² Permukaan kulit dan lapisan bawahnya terpotong sampai kedalaman yang bervariasi dapat terjadi secara sengaja atau tidak sengaja.⁴³ Bekas luka dapat memberikan dampak fisik dan psikologis yang signifikan tergantung pada warna, bentuk, ukuran, lokasi tubuh, luas permukaan atau fungsinya. Baik prosedur yang menyelamatkan nyawa seperti mastektomi, operasi caesar, atau eksisi tahi lalat, atau prosedur estetika.¹ Adanya jaringan yang rusak atau hilang akan merespon dan memicu proses penyembuhan luka. Penyembuhan akan melalui beberapa fase yaitu fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi dan fase remodeling.⁴²

Tahap awal fase hemostasis ekspresi CXCL4, PDGF dan TGF- β mengaktifkan fibroblas dan keratinosit untuk memulai inflamasi. Keratinosit, sebagai jenis sel utama epidermis, melepaskan sitokin proinflamasi sedangkan Neutrofil serta makrofag meningkatkan kadar ROS. Aktivasi makrofag, neutrofil, dan keratinosit menyebabkan sterilisasi luka dan kemudian memulai inflamasi.⁴⁰ Pensinyalan intra seluler mempengaruhi beberapa aktor seluler dalam penyembuhan luka, makrofag memainkan peran kunci dalam transisi dari peradangan menjadi anti-inflamasi fenotip, menyebabkan sekresi sitokin inflamasi, seperti IL-1, TNF, dan IL-6.⁴⁰

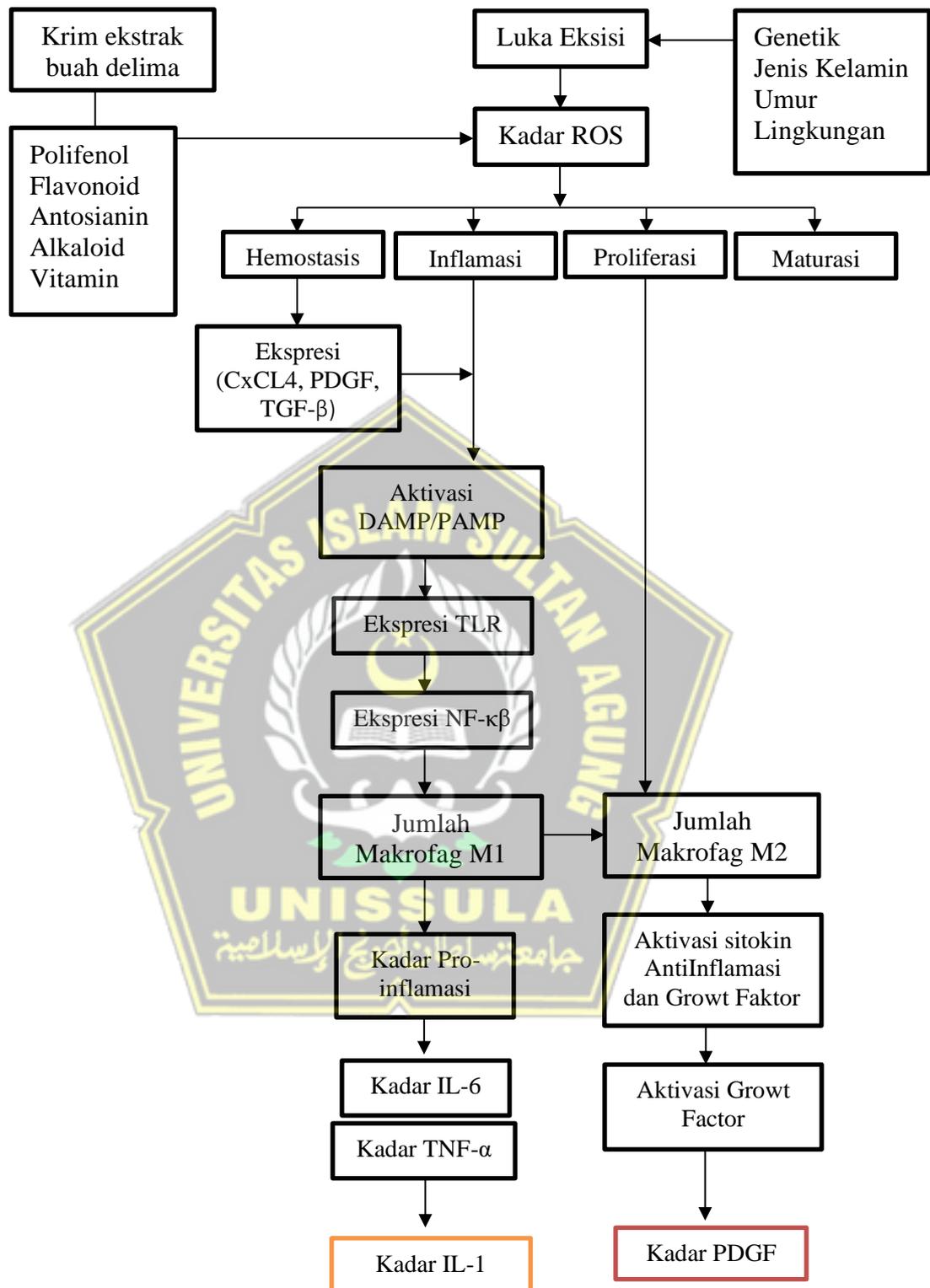
Makrofag, sel dendritik, dan neutrofil, merupakan pemain penting dalam imunitas bawaan dan peradangan. Sel-sel ini mengekspresikan PRR yang mendeteksi

berbagai komponen mikroba, yang disebut PAMPs. PRR juga mengenali DAMPs,

Sebagai respons terhadap beragam PAMP dan DAMP, makrofag menjadi aktif dengan mengeluarkan sejumlah besar sitokin dan kemokin. Makrofag yang teraktivasi mampu berdiferensiasi menjadi keadaan yang berbeda secara fenotip, termasuk makrofag yang teraktivasi secara klasik (M1) dan teraktivasi secara alternatif (M2). Makrofag M1 dicirikan oleh produksi sitokin pro-inflamasi, seperti IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α dan kemokin, terlibat dalam berbagai proses inflamasi. Sebaliknya, makrofag M2 menghasilkan sitokin antiinflamasi, penting untuk resolusi peradangan dan memediasi penyembuhan luka.³² Sinyal TLR memiliki peran penting dalam mengatur polarisasi makrofag. TAK1 mengaktifkan kinase hilir IKK, yang pada gilirannya memfosforilasi inhibitor NF- κ B. NF- κ B adalah faktor transkripsi kunci makrofag M1 dan diperlukan untuk induksi sejumlah besar makrofag M1. gen inflamasi, termasuk gen yang mengkode TNF- α , IL-1, IL-6.⁴⁴

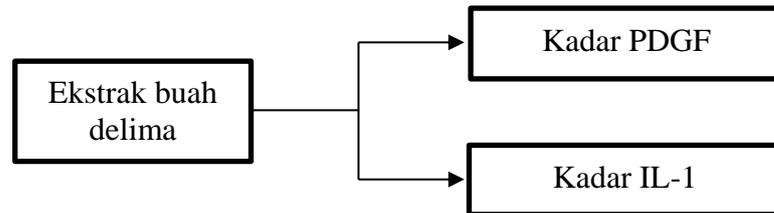
Makrofag M2 mengaktifkan fibroblas untuk menghasilkan faktor pertumbuhan seperti TGF- β , VEGF, FGF, dan PDGF yang merangsang proliferasi dan migrasi keratinosit.⁴⁰ PDGF merangsang proliferasi fibroblast, PDGF berikatan dengan reseptornya (PDGF-R) maka akan terjadi penarikan molekul sinyal ke daerah luka, sehingga memicu migrasi sel fibroblast. Sel fibrosit yang terdapat dalam jaringan ikat dan dalam keadaan tidak aktif, apabila sel fibrosit tersebut aktif, maka disebut dengan sel fibroblast.⁴⁵

Dari mekanisme diatas, dapat disusun kerangka teori sebagai berikut:



Gambar 3.1. Skema Kerangka Teori

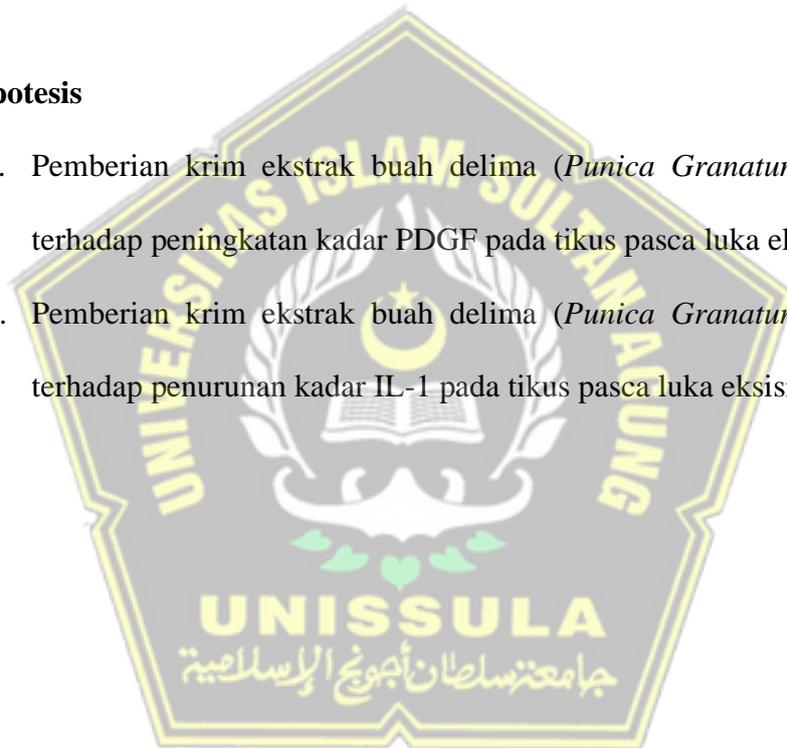
3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Skema Kerangka Konsep

3.3 Hipotesis

- a. Pemberian krim ekstrak buah delima (*Punica Granatum*) berpengaruh terhadap peningkatan kadar PDGF pada tikus pasca luka eksisi
- b. Pemberian krim ekstrak buah delima (*Punica Granatum*) berpengaruh terhadap penurunan kadar IL-1 pada tikus pasca luka eksisi



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

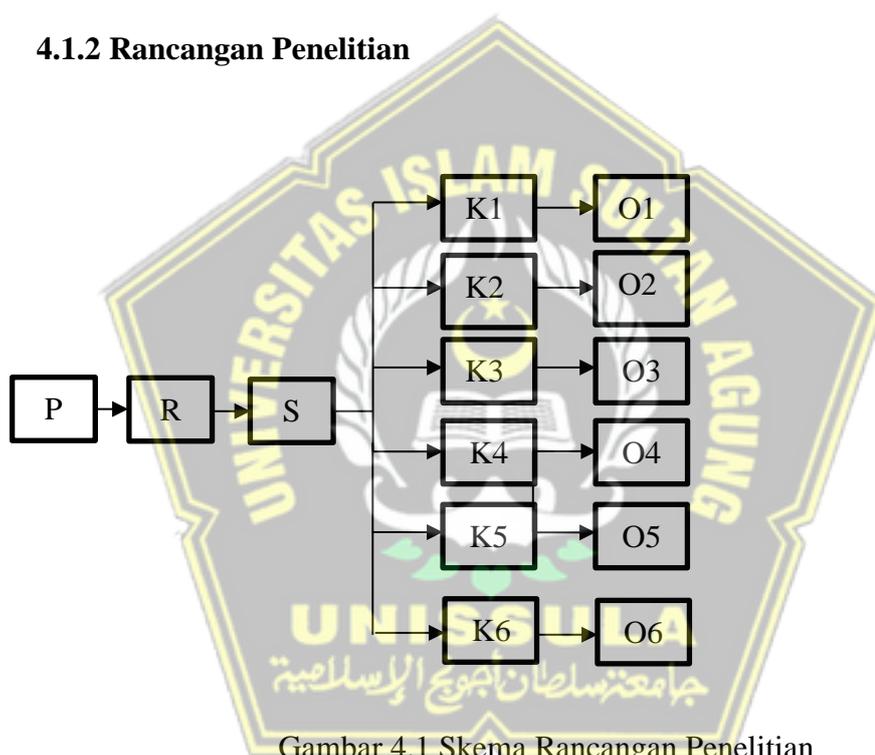
4.1.1 Jenis Penelitian

Penelitian eksperimental menggunakan rancangan *post test only control group design*. subjek penelitian adalah Tikus jantan galur *Wistar* dengan bobot badan 180-220 gr, kelompok perlakuan terdiri atas:

- a. Kelompok Normal (K1): Tikus sehat tanpa perlakuan selama 3 hari,
- b. Kelompok *sham* (K2): tikus luka eksisi tanpa dioles krim selama 3 hari,
- c. Kelompok kontrol negatif (K3): Tikus luka eksisi dan diberikan base krim selama 3 hari,
- d. Kelompok kontrol positif (K4): Tikus luka eksisi dan diberikan bioplacenta selama 3 hari
- e. Perlakuan 1 (K5): Tikus luka eksisi dan diberikan krim ekstrak buah delima 10% selama 3 hari
- f. Perlakuan 2 (K6): Tikus luka eksisi dan diberikan krim ekstrak buah delima 20% selama 3 hari.
- g. Kelompok Normal (K7): Tikus sehat tanpa perlakuan selama 7 hari,
- h. Kelompok *sham* (K8): tikus luka eksisi tanpa dioles krim selama 7 hari,
- i. Kelompok kontrol negatif (K9): Tikus luka eksisi dan diberikan base krim selama 7 hari,

- j. Kelompok kontrol positif (K10): Tikus luka eksisi dan diberikan bioplacenton selama 7 hari
- k. Perlakuan 1 (K11): Tikus luka eksisi dan diberikan krim ekstrak buah delima 10% selama 7 hari
- l. Perlakuan 2 (K12): Tikus luka eksisi dan diberikan krim ekstrak buah delima 20% selama 7 hari.

4.1.2 Rancangan Penelitian



Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

- P = Populasi
- R = Randomisasi
- S = Sampel
- O = Observasi

4.1.3 Populasi dan Sampel Penelitian

4.1.3.1 Subjek Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan subjek tikus Wistar yang berusia 2-3

bulan dengan bobot badan 180-220 gram yang dinyatakan sehat dan layak digunakan untuk penelitian. Tikus Wistar menjalani adaptasi selama 7 hari. Tikus ditempatkan pada kandang terpisah dengan suhu tetap dan diberi pakan normal.

4.1.3.2 Sampel Penelitian

1. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Tikus jantan galur wistar yang mengalami inflamasi akibat perlakuan luka eksisi
- b. Umur 2-3 bulan
- c. Kondisi sehat
- d. Berat badan 180-220 gram

2. Kriteria Eksklusi

Tikus putih jantan galur Wistar dengan kriteria :

- a. Memiliki kelainan anatomi
- b. Sudah pernah menjadi objek penelitian sebelumnya.

3. Kriteria Drop Out

Tikus mati atau infeksi selama penelitian.

4.2 Besar Sampel

Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi 12 kelompok. Sampel diambil dari populasi berjumlah 48 ekor, besarnya ditentukan berdasarkan rumus Federer.

$$\text{Rumus Federer} \quad : (n-1) \times (t-1) \geq 15$$

Keterangan : n = Jumlah sampel
: t = Jumlah kelompok

Banyak Kelompok : 5 kelompok (t =)

Sampel tiap kelompok : $(n-1) \times (t-1) \geq 15$
 $(n-1) \times (12-1) \geq 15$
 $(n-1) \times 11 \geq 15$
 $11 \times 11 \geq 15$
 $n \geq (15+11)/11$
 $n \geq 2,36$

Perhitungan dengan menggunakan rumus federer didapatkan jumlah tikus 3 ekor perkelompok. Jumlah sampel yang digunakan peneliti yaitu minimal 4 ekor tikus perkelompok.

Penelitian ini dilakukan pada 12 kelompok perlakuan, yang disetiap kelompok terdiri dari 3+1 ekor tikus, dengan total keseluruhan berjumlah 48 ekor tikus Wistar. Setiap kelompok akan ditambahkan 1 ekor tikus sebagai cadangan apabila ada sampel yang drop out.

4.3 Teknik Sampling Penelitian

Pengambilan sampel pada penelitian ini dengan menggunakan teknik *probability sampling* yaitu dengan cara pengambilan sampel dalam populasi yang mempunyai kesempatan yang sama untuk di pilih menjadi sampel. Sistem yang digunakan yaitu pengambilan sampel secara acak yang sangat sederhana (*simple random sampling*). Semua tikus Wistar yang memenuhi kriteria untuk penelitian berjumlah 48 tikus yang dibagi menjadi 12 kelompok perlakuan

secara random. Terdapat satu kelompok kontrol dan lainnya sebagai kelompok perlakuan.

4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.4.1 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Krim ekstrak buah delima dengan dosis 10% dan 20%

2. Variabel Prakondisi

Tikus dengan model luka eksisi

3. Variabel Terikat

Kadar PDGF dan IL-1

4.5 Definisi Operasional

Ekstrak buah delima adalah krim ekstrak buah delima menggunakan pelarut etanol 70% yang dibuat sediaan krim dengan konsentrasi 10% dan 20%. Pada buah delima diketahui mengandung antioksi dan yang tinggi. Hasil ukuran mg dengan skala ordinal.

Kadar PDGF adalah jumlah kadar PDGF yang diekspresikan pada jaringan kulit sampel tikus Wistar setelah perlakuan luka eksisi dan diberikan krim buah delima. Pengukuran kadar PDGF pada jaringan kulit metode ELISA dengan hasil berbentuk presentase. Skala:rasio

Kadar IL-1 adalah jumlah kadar IL-1 yang diekspresikan pada jaringan kulit sampel tikus Wistar setelah perlakuan luka eksisi dan diberikan krim buah delima. Pengukuran kadar IL-1 pada jaringan kulit metode ELISA dengan hasil berbentuk presentase. Skala:rasio

4.6 Bahan atau Materi Penelitian

4.6.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Ekstrak ethanol buah delima
2. Ketamine
3. Akuadest
4. Alkohol 70%, 80%, parafin,
5. Fine test ELISA kit Rat PDGF
6. Fine test ELISA kit Rat IL-1

4.6.2 Instrumen Penelitian

1. Kandang berukuran 55 x 22 x 22 cm dilengkapi dengan tempat pakan dan minum
2. Pipa PVC
3. Spuit 3 dan 5 ml
4. Timbangan digital
5. Alat untuk membuat sampel pemeriksaan (pisau scalpel)
6. Alat-alat ekstraksi kulit kayu manis: oven, botol maserasi, *rotary evaporator*
7. Alat-alat penunjang pembuatan sediaan krim: cawan porselen, pemanas air, mortar.

4.7 Cara Penelitian dan Alur kerja

4.7.1 Perolehan Ethical Clearance

Ethical clearance penelitian diajukan kepada komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

4.7.2 Cara Pembuatan Ekstrak buah delima

- a) Sampel buah delima sebanyak 2 kg, bagian yang digunakan adalah daging buahnya. Sampel dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C dan dihaluskan, hasilnya dilakukan pemeriksaan kadar air dengan *moisture balance*, jika hasil kadar air dibawah 10% maka hasil pengeringan dianggap baik. Buah delima yang sudah dihaluskan.
- b) Kemudian diayak dengan ayakan ukuran 20 mesh. 500 gram buahdelima diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 3.750 ml. Serbuk simplisia buah delima dimasukkan ke dalam botol berwarna gelap secara terpisah.
- c) Kemudian simplisia direndam menggunakan pelarut etanol selama 5 hari dan sesekali dikocok 3 kali sehari, setelah 3 hari kemudian disaring dan ampasnya dimaserasi ulang selama 2 hari dengan etanol 70% sebanyak 1250 ml. pengulangan dilakukan sebanyak tiga kali.
- d) Filtrat yang terkumpulkan kemudian dikentalkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50° hingga diperoleh ekstrak kental.

4.7.3 Persiapan Hewan Uji

Subjek penelitian berjumlah 48 ekor tikus jantan galur *Wistar (Rattus norvegicus)*, berumur 2-3bulan, dengan berat badan 180-210 gr, yang terbagi menjadi 12 kelompok, masing-masing berjumlah 4 ekor tikus. Tikus yang sudah diadaptasi selama 7 hari dibius dengan campuran ketamin (60 mg/kgbb) dan xylazine (20mg/bb), permukaan kulit yang telah bersih menggunakan *bioplacenton* untuk menghindari infeksi selama pembuatan luka. Pembuatan luka dilakukan dengan menggunakan eksisi *punch biopsy* melingkar dengan ketebalan penuh 6 mm. Hari berikutnya tikus kemudian diberikan perlakuan sesuai dengan kelompoknya. Diberikan perlakuan secara topikal sebanyak satu kali sehari selama 7 hari pasca penyinaran UV B. Sampel kulit pada kelompok validasi diambil untuk dibuat preparat histologi dengan metode parafin dengan pewarnaan *Hematoxilin eosin* (HE).

4.7.4 Pembuatan Sediaan Krim Ekstrak buah delima

Pembuatan sediaan krim ekstrak buah delima dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

1. Siapkan *vanishing cream* dengan komposisi dalam 50 gram dengan komposisi (*Asam stearate, Trietanolamin, Glycerine, Borax, dan aquadest*)
2. Panaskan air dalam bekgelas, lalu masukkan *asam stearate* 14,5 gram dalam cawan porselin dan letakkan diatas air mendidih, Aduk sampai mencair

3. Tambahkan secara berurutan *Borax* 125 mg kemudian homogenkan, tambahkan *Trietanolamin* 1,5 ml, *Glycerine* 10 ml, dan aquadest 25ml sampai tercampur rata.
4. Pembuatan krim dalam 20gram dilakukan dengan menimbang ekstrak buah delima 0,6 gram kemudian dimasukkan dalam mortir, tambahkan *Tween* secukupnya untuk sambil dihomogenkan
5. Tambahkan *vanishing cream* 20 gram, aduk rata sampai homogen, *Krim* ekstrak buah delima dimasukkan kedalam pot.⁴⁶

4.7.5 Pengambilan Sampel Jaringan Kulit Tikus Luka Eksisi

Setelah pemberian perlakuan, hari ke 4 dan hari ke 8 dilakukan pengambilan jaringan. Sebelumnya semua tikus Wistar diterminasi terlebih dahulu dengan pembiusan pada tikus. Buat sayatan jaringan pada bagian kulit yang mengalami luka, menggunakan gunting dan pinset. Sampel jaringan dipotong dan di timbang, selanjutnya jaringan ditambahkan dengan PBS (PH 7,4). Kemudian sampel jaringan di homogenisasi (dihancurkan) dalam kondisi dingin, 4°C. selanjutnya setrifus dengan kecepatan 2000-3000 rpm, selama 20 menit. Kemudian supernatan yaitu substansi hasil sentrifugasi yang memiliki bobot jenis yang lebih rendah diambil dan digunakan sebagai sampel uji. Apabila sampel akan disimpan terlebih dahulu, maka sampel dapat disimpan pada suhu -20°C.

4.7.6 Pemeriksaan kadar PDGF dan IL-1 Menggunakan Metode ELISA

Sampel jaringan kulit yang sudah diperoleh kemudian dianalisis kadar PDGF dan IL-1 menggunakan metode ELISA. Analisis ELISA PDGF dan

IL-1 dilakukan sesuai prosedur yang dilampirkan dalam produk. Analisis kadar PDGF dan IL-1 menggunakan alat *microplate reader* dengan panjang gelombang 450nm.

Tahap pemeriksaan metode ELISA yaitu sebagai berikut:

1. Pembuatan standard

Sepuluh sumuran pada mikroplate disiapkan untuk standard. Pada sumuran 1 dan 2, masukkan 100 ul standard dan 50 ul standard diluent, kemudian dicampur. Pada sumuran 3 dan 4, masukkan 100 ul cairan dari sumuran 1 dan 2 dan 50 ul standard diluent, kemudian dicampur. Pada sumuran 5 dan 6, masukkan 100 ul cairan dari sumuran 3 dan 4 dan 50 ul standard diluent, kemudian dicampur. Pada sumuran 7 dan 8, masukkan 100 ul cairan dari sumuran 5 dan 6 dan 50 ul standard diluent, kemudian dicampur. Pada sumuran 9 dan 10, masukkan 100 ul cairan dari sumuran 7 dan 8 dan 50 ul standard diluent, kemudian dicampur.

2. Ditambahkan Capture antibodi pada tiap sumuran. Kemudian dilakukan inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C atau selama semalam pada suhu 4°C.

3. Persiapan *wash solution*: larutkan wash solution 30x dengan aquadest (1 ml wash solution ditambahkan 29 ml aquadest).

4. Buang cairan dari sumuran dan cuci sumuran sebanyak 5 kali dengan larutan pencuci yang telah disiapkan pada tahap 3.

5. Ditambahkan *blocking buffer*, untuk membuat antigen pada sampel menempel pada plate, Inkubasi plate selama 60 menit, pada suhu 37°C atau selama semalam pada suhu 4°C.
6. Masukkan 10 ul sampel dan 40 ul sampel diluent ke tiap sumuran. Sampel sebaiknya langsung dimasukkan ke dasar sumuran. Selanjutnya, dilakukan pencampuran sehingga sampel dan sampel diluent tercampur dengan baik.
7. Inkubasi plate selama 120 menit pada suhu ruangan, tambahkan 100 ul *biotinylated* antibodi pada tiap sumuran.
8. Inkubasi plate selama 60 menit, pada suhu 37°C atau selama semalam pada suhu 4°C.
9. Buang cairan dari sumuran dan cuci sumuran sebanyak 5 kali dengan larutan pencuci yang telah disiapkan pada tahap 3, Tambahkan 100 ul ABC solution pada tiap sumuran, inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C.
10. Buang cairan dari sumuran dan cuci sumuran sebanyak 5 kali dengan larutan pencuci yang telah disiapkan pada tahap 3.
11. Kemudian ditambahkan 90 ul HRP-conjugate dan 90 ul TMB pada tiap sumuran. Inkubasi plate selama 30 menit, pada suhu 37°C.
12. Selanjutnya, ditambahkan 100 ul stop solution pada tiap sumuran, sehingga akan terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning.
13. Selanjutnya, baca nilai OD (*optical density*) pada panjang gelombang 450 nm pada ELISA reader

14. Selanjutnya, akan didapatkan hasil dari sampel jaringan kulit yang diberikan krim ekstrak buah delima.

4.8 Tempat dan Waktu Penelitian

4.6.1 Tempat Penelitian

Pengambilan sampel penelitian dilakukan di Laboratorium SCCR

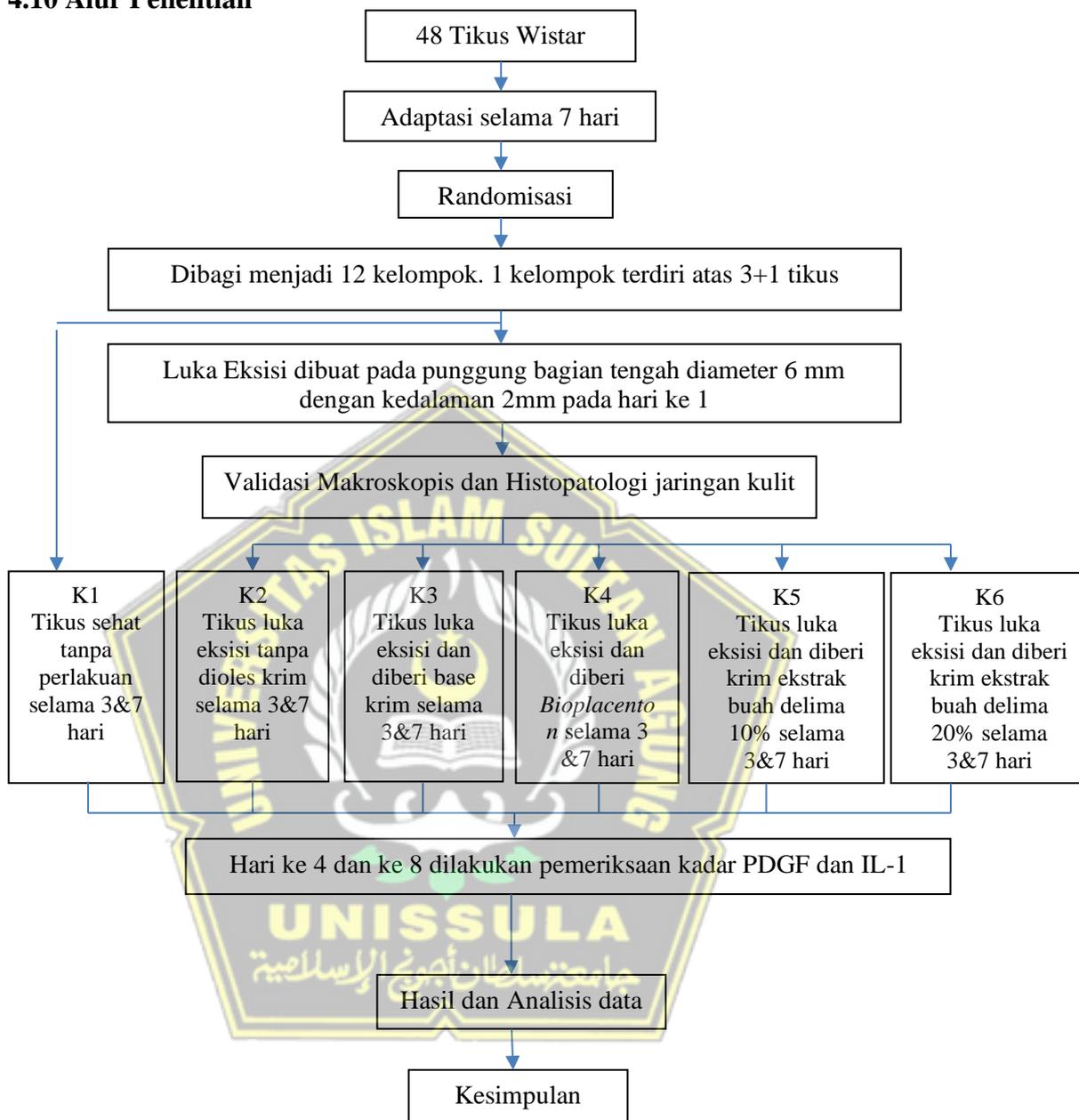
4.6.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April-Mei 2024

4.9 Metode Analisis Data

Data yang dikumpulkan akan diproses, disunting dan ditabulasi untuk dilakukan uji deskriptif yang dilanjutkan dengan normalitas data dengan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas data dengan uji *Levene*. Apabila data yang dihasilkan normal dan homogen ($P > 0,05$), maka akan dilakukan uji beda uji *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* untuk mengetahui perbedaan masing masing kelompok. Jika data yang dihasilkan normal namun tidak homogen ($P > 0,05$), maka akan dilakukan uji beda uji *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tamhane* untuk mengetahui perbedaan masing masing kelompok. Pengolahan analisis data dengan menggunakan SPSS. 26.0.

4.10 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Skema Alur Penelitian

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian melakukan analisis pengaruh krim ekstrak buah delima terhadap kadar PDGF dan IL-1 pada tikus tikus model luka eksisi dengan total sampel berjumlah 48 ekor tikus wistar jantan yang dibagi menjadi 12 kelompok, terdiri dari 4 ekor tikus tiap kelompok. Subjek dibagi menjadi pemeriksaan setelah perlakuan hari ke 3 dan setelah perlakuan hari ke 7 perlakuan.

Pemeriksaan setelah perlakuan hari ke 3 terdiri atas kelompok normal (K1) tikus sehat tanpa perlakuan selama 3 hari, kelompok *sham* (K2) tikus luka eksisi tanpa dioles krim selama 3 hari, kelompok kontrol negatif (K3) tikus luka eksisi dan diberikan base krim selama 3 hari, kelompok kontrol positif (K4) tikus luka eksisi dan diberikan bioplacenton selama 3 hari, perlakuan 1 (K5) tikus luka eksisi dan diberikan krim ekstrak buah delima 10% selama 3 hari, dan perlakuan 2 (K6) tikus luka eksisi dan diberikan krim ekstrak buah delima 20% selama 3 hari. Sampel jaringan kulit diambil pada hari ke 4 untuk dilakukan pemeriksaan kadar PDGF dan IL-1.

Pemeriksaan setelah perlakuan hari ke 7 terdiri atas kelompok normal (K7) tikus sehat tanpa perlakuan selama 7 hari, Kelompok *sham* (K8) tikus luka eksisi tanpa dioles krim selama 7 hari, kelompok kontrol negatif (K9) tikus luka eksisi dan diberikan base krim selama 7 hari, kelompok kontrol positif (K10) tikus luka eksisi dan diberikan bioplacenton selama 7 hari, perlakuan 1 (K11) tikus luka eksisi dan diberikan krim ekstrak buah delima 10% selama 7 hari, Perlakuan 2 (K12) tikus

luka eksisi dan diberikan krim ekstrak buah delima 20% selama 7 hari. Sampel jaringan kulit diambil pada hari ke 8 untuk dilakukan pemeriksaan kadar PDGF dan IL-1.

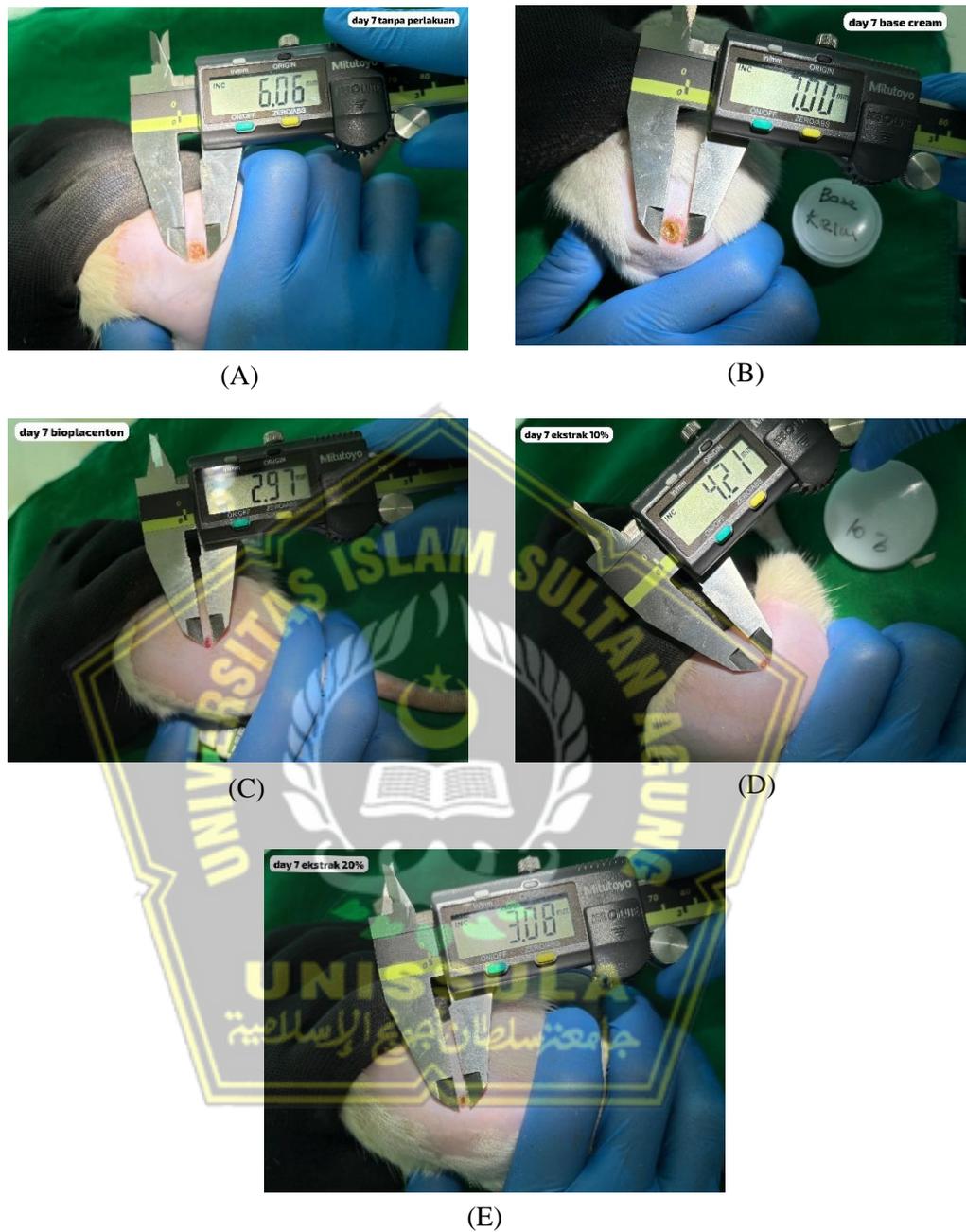
5.1.1 Gambaran makroskopis luka eksisi pada tiap kelompok perlakuan

Gambaran makroskopis kondisi luka eksisi tanpa perlakuan krim dengan kelompok perlakuan krim ekstrak buah delima dosis 20% pada subjek tikus pasca luka eksisi pada hari pertama seperti pada gambar berikut:



Gambar 5.1 Luka eksisi tanpa perlakuan (A) dan Luka eksisi dengan perlakuan

Gambaran makroskopis perlakuan luka eksisi setelah hari ke 7 perlakuan menunjukkan perbedaan diameter luas luka, kelompok luka eksisi tanpa perlakuan dengan diameter luas luka 6,06 mm, kelompok yang diberikan base cream dengan diameter luas luka 7,00mm, kelompok yang diberikan bioplacenton 2,97mm, kelompok yang diberikan krim ekstrak buah delima 10% dengan diameter luka 4,21mm, dan kelompok yang diberikan krim ekstrak buah delima 20% dengan diameter luka 3,08mm. pemberian ekstrak buah delima mempercepat penutupan luas luka mendekati diameter dengan pemberian bioplacenton, seperti pada gambar 5.2 berikut:



Gambar 5.2 Diameter penyembuhan luka hari ke 7 kelompok tanpa perlakuan (A), Kelompok base cream (B), Kelompok bioplacenton (C), krim ekstrak 10% (D), dan krim ekstrak 20% (E)

5.1.2 Hasil pemeriksaan kadar IL-1 jaringan kulit setelah hari ke 3 perlakuan

Hasil analisis rerata kadar IL-1 setelah hari ke 3 perlakuan pada masing-masing kelompok ditunjukkan pada tabel 5.1 sebagai berikut:

Tabel 5.1 Hasil uji deskriptif rerata kadar IL-1 dan uji *One way anova* setelah hari ke 3 perlakuan

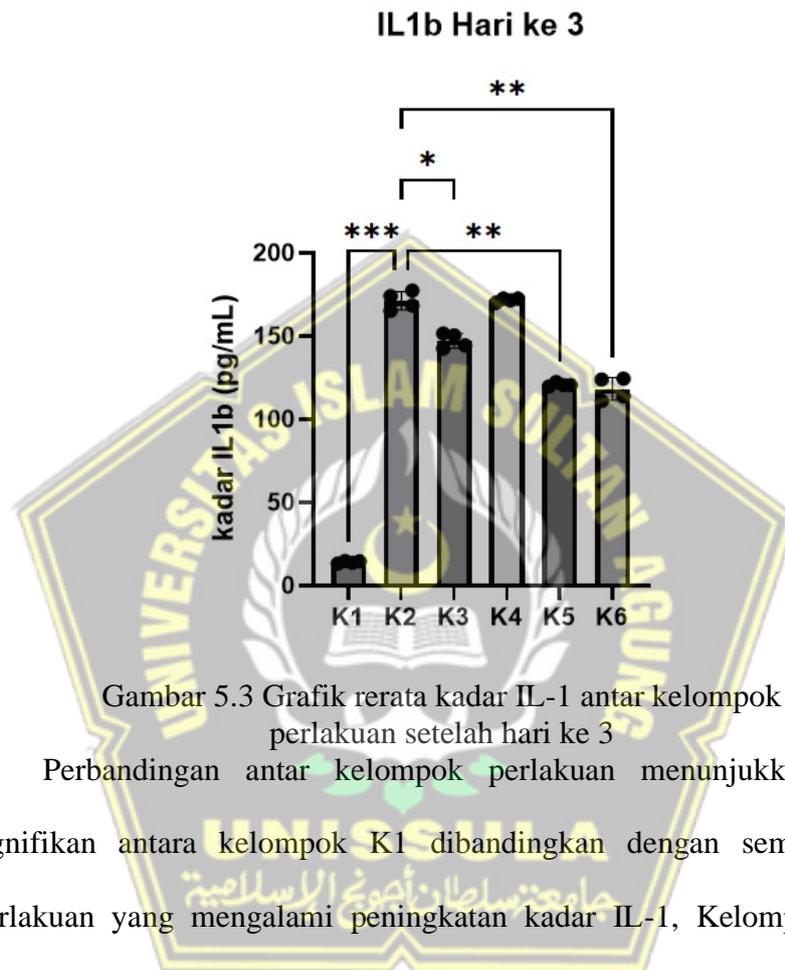
Kelompok	K1 tikus sehat	K2 Sham	K3 Base cream	K4 Bioplac enton	K5 Dosis 10%	K6 Dosis 20%	P value
Kadar IL-1 pg/mL							
Mean	14,08	171,30	147,22	171,68	120,87	118,26	
SD	±0,72	±5,48	±4,41	±1,23	±1,09	±6,86	
<i>Shapiro-Wilk</i>	*0,513	*0,789	*0,310	*0,233	*0,406	*0,161	
<i>Leuvene Test</i>							0,000
<i>One way anova</i>							0,000

Keterangan: * *Shapiro-Wilk* = Normal ($p > 0,05$)
 * *Leuvene Test* = Homogen ($p > 0,05$)
 * *One way anova* = Signifikan ($p < 0,05$)

Rerata kadar IL-1 dilakukan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil rerata kadar IL-1 terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan uji homogenitas data dengan uji *Leuvene Test* memiliki variasi data yang tidak homogen dengan hasil 0,000 ($p > 0,05$). Hasil data yang terdistribusi normal dan tidak homogen, dilakuakn uji *One way anova* dengan hasil 0,000 ($< 0,05$) menunjukkan terdapat perbedaan signifikan terhadap kadar IL-1 antar kelompok perlakuan.

Berdasarkan tabel 5.1 menunjukkan bahwa hasil rerata kadar IL-1 setelah perlakuan hari ke 3 pada kelompok sehat (K1) sebesar 14,08 pg/mL, kelompok *sham* (K2) 171,30 pg/mL, kelompok *base cream* (K3) 147,22 pg/mL, kelompok *bioplacenton* (K4) 171,68 pg/mL, kelompok dosis 10% (K5) 120,87

pg/mL dan kelompok dosis 20% (K6) 118,26 pg/mL. Kadar IL-1 paling rendah pada kelompok tikus sehat (K1) dan kadar IL-1 paling tinggi pada kelompok bioplacenton (K4).



Gambar 5.3 Grafik rerata kadar IL-1 antar kelompok perlakuan setelah hari ke 3

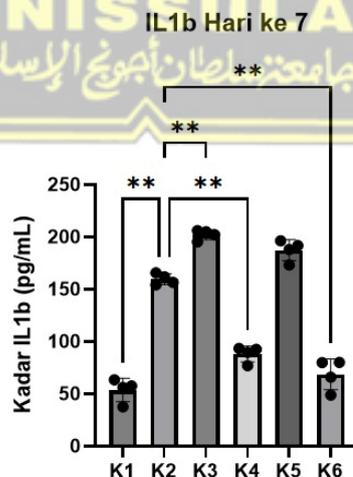
Perbandingan antar kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan signifikan antara kelompok K1 dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan yang mengalami peningkatan kadar IL-1, Kelompok K2 tanpa intervensi menunjukkan perbedaan signifikan penurunan kadar IL-1 dengan kelompok perlakuan krim ekstrak 10% dan kelompok 20% (K5 dan K6).

Perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan, kemudian dibuktikan dengan uji *Post hoc tamhane* untuk mengetahui perbandingan dosis yang paling berpengaruh. Hasil uji *Post hoc tamhane* ditunjukkan pada tabel 5.2 berikut:

Keterangan: * *Shapiro-Wilk* = Normal ($p > 0,05$)
 * *Leuvene Test* = Homogen ($p > 0,05$)
 * *One way anova* = Signifikan ($p < 0,05$)

Rerata kadar IL-1 dilakukan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil rerata kadar IL-1 terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan uji homogenitas data dengan uji *Leuvene Test* memiliki variasi data yang homogen dengan hasil 0,300 ($p > 0,05$). Hasil data yang terdistribusi normal dan homogen, dilakuakn uji *One way anova* dengan hasil 0,000 ($< 0,05$) menunjukkan terdapat perbedaan signifikan terhadap kadar IL-1 antar kelompok perlakuan.

Berdasarkan tabel 5.3 menunjukkan bahwa hasil rerata kadar IL-1 setelah perlakuan hari ke 7 pada kelompok sehat (K1) sebesar 53,68 pg/mL, kelompok *sham* (K2) 159,59 pg/mL, kelompok *base cream* (K3) 202,17 pg/mL, kelompok *bioplacenton* (K4) 88,17 pg/mL, kelompok dosis 10% (K5) 187,36 pg/mL dan kelompok dosis 20% (K6) 68,67 pg/mL. Kadar IL-1 paling rendah pada kelompok tikus sehat (K1) dan kadar IL-1 paling tinggi pada kelompok *base cream* (K3).



Gambar 5.4 Grafik rerata kadar IL-1 antar kelompok perlakuan setelah hari ke 7

Perbandingan antar kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan

signifikan kelompok tikus sehat dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan yang mengalami peningkatan kadar IL-1, Kelompok perlakuan krim ekstrak 20% menunjukkan hasil rerata kadar IL-1 paling rendah dibanding kelompok dengan pemberian bioplacenton maupun kelompok perlakuan lainnya.

Perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan, kemudian dibuktikan dengan uji *Post hoc LSD* untuk mengetahui perbandingan dosis yang paling berpengaruh. Hasil uji *Post hoc LSD* ditunjukkan pada tabel 5.2 berikut:

Tabel 5.4 Hasil uji *Post hoc LSD* kadar IL-1 jaringan kulit tikus pasca luka eksisi setelah perlakuan hari ke 7
Keterangan: * Bermakna $p < 0,05$

Kelompok	K2	K3	K4	K5	K6
K1	*0,000	*0,000	*0,000	*0,000	*0,001
K2	-	*0,009	1,000	*0,003	*0,000
K3		-	*0,013	*0,012	*0,012
K4			-	*0,000	*0,006
K5				-	1,000

Perbandingan rerata kadar IL-1 kelompok tikus sehat berbeda bermakna jika dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan luka eksisi. Kelompok perlakuan yang diberikan krim ekstrak buah delima dosis 20% menunjukkan perbedaan paling signifikan dengan rerata kadar IL-6 paling rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Dapat disimpulkan bahwa pemberian krim ekstrak buah delima memberikan pengaruh penurunan kadar IL-6 pada hari ke 7 setelah perlakuan.

5.1.4 Hasil pemeriksaan kadar PDGF jaringan kulit setelah hari ke 3 perlakuan

Hasil analisis rerata kadar PDGF setelah hari ke 3 perlakuan pada masing-masing kelompok ditunjukkan pada tabel 5.5 sebagai berikut:

Tabel 5.5 Hasil uji deskriptif rerata kadar PDGF dan uji *Kruskal Wallis* setelah hari ke 3 perlakuan

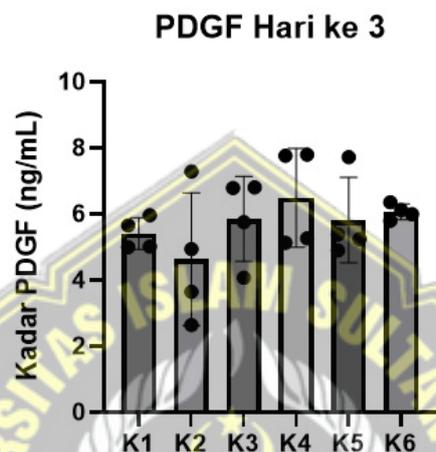
Kelompok	K1 tikus sehat	K2 <i>Sham</i>	K3 <i>Base cream</i>	K4 <i>Bioplac enton</i>	K5 Dosis 10%	K6 Dosis 20%	<i>P</i> <i>value</i>
Kadar PDGF pg/mL							
Mean	5,40	4,63	5,85	6,49	5,81	6,06	
SD	±0,48	±2,01	±1,29	±1,49	±1,29	±0,23	
<i>Shapiro-Wilk</i>	*248	*0,792	*0,212	0,044	*0,062	*0,994	
<i>Leuvene Test</i>							*0,300
<i>Kruskal Wallis</i>							0,397

Keterangan: * *Shapiro-Wilk* = Normal ($p > 0,05$)
* *Kruskal Wallis* = Signifikan ($p < 0,05$)

Hasil rerata kadar PDGF dilakukan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil data terdistribusi normal ($p > 0,05$) pada kelompok K1, K2, K3, K5, dan K6 namun tidak terdistribusi normal pada kelompok K4 $p = 0,044$ ($p > 0,05$) Hasil data yang tidak terdistribusi normal kemudian dilakukan uji non parametrik *Kruskal Wallis* $p = 0,397$ ($< 0,05$) menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan kadar PDGF antar kelompok perlakuan.

Berdasarkan tabel 5.5 menunjukkan bahwa hasil rerata kadar PDGF setelah perlakuan hari ke 3 pada kelompok sehat (K1) sebesar 5,40 pg/mL, kelompok *sham* (K2) 4,63 pg/mL, kelompok *base cream* (K3) 5,85 pg/mL, kelompok *bioplacenton* (K4) 6,49 pg/mL, kelompok dosis 10% (K5) 5,81

pg/mL dan kelompok dosis 20% (K6) 6,06 pg/mL. Kadar PDGF paling rendah pada kelompok *sham* (K2) dan kadar PDGF paling tinggi pada kelompok bioplacenton (K4). Perbandingan antar kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan seperti pada gambar 5.5 berikut:



Gambar 5.5 Grafik rerata kadar PDGF antar kelompok perlakuan setelah hari ke 3

5.1.5 Hasil pemeriksaan kadar PDGF jaringan kulit setelah hari ke 7 perlakuan

Hasil analisis rerata kadar PDGF setelah hari ke 7 perlakuan pada masing-masing kelompok penelitian ditunjukkan pada tabel 5.3 sebagai berikut:

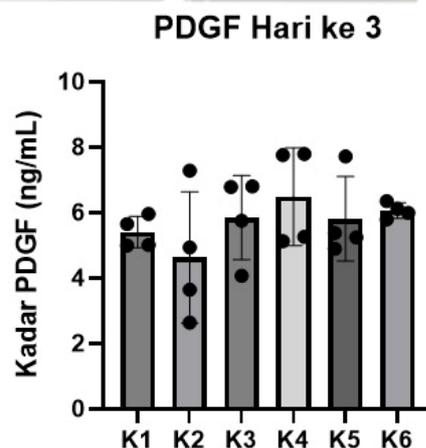
Tabel 5.6 Hasil uji deskriptif rerata kadar PDGF dan uji *Kruskal Wallis* setelah hari ke 7 perlakuan

Kelompok	K7 tikus sehat	K8 Tanpa intervensi	K9 Krim dasar	K10 <i>Biopla centon</i>	K11 Dosis 10%	K12 Dosis 20%	<i>P value</i>
Kadar VEGF pg/mL							
Mean	7,47	7,32	7,89	6,89	8,17	9,15	
SD	±1,26	±0,19	±0,16	±0,59	±0,09	±0,91	
<i>Shapiro- Wilk</i>	0,016	*0,168	*0,644	*0,276	*0,708	*0,379	

Keterangan: * *Shapiro-Wilk* = Normal ($p > 0,05$)
 * *Kruskal Wallis* = Signifikan ($p < 0,05$)

Hasil rerata kadar PDGF dilakukan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil data terdistribusi normal ($p > 0,05$) pada kelompok K2, K3, K4, K5 dan K6 namun tidak terdistribusi normal pada kelompok K1 $p = 0,016$ ($p > 0,05$) Hasil data yang tidak terdistribusi normal kemudian dilakukan uji non parametrik *Kruskal Wallis* $p = 0,010$ ($< 0,05$) menunjukkan terdapat perbedaan signifikan kadar PDGF antar kelompok perlakuan.

Berdasarkan tabel 5.5 menunjukkan bahwa hasil rerata kadar PDGF setelah perlakuan hari ke 7 pada kelompok sehat (K7) sebesar 7,47pg/mL, kelompok *sham* (K8) 7,32 pg/mL, kelompok *base cream* (K9) 7,89 pg/mL, kelompok *bioplacenton* (K10) 6,89 pg/mL, kelompok dosis 10% (K11) 8,17 pg/mL dan kelompok dosis 20% (K12) 9,14 pg/mL. Kadar PDGF paling rendah pada kelompok *bioplacenton* (K10) dan kadar PDGF paling tinggi pada kelompok kelompok dosis 20% (K12). Perbandingan antar kelompok perlakuan seperti pada gambar grafik 5.5 berikut:



Gambar 5.6 Grafik rerata kadar PDGF antar kelompok perlakuan setelah hari ke 7

Perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan dengan uji non parametrik *Kruskal Wallis*, kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbandingan dosis yang paling berpengaruh. Hasil uji *Mann Whitney* ditunjukkan pada tabel 5.7 berikut:

Tabel 5.7 Hasil uji *Mann Whitney* kadar PDGF jaringan kulit tikus pasca luka eksisi setelah perlakuan hari ke 7

Kelompok	K2	K3	K4	K5	K6
K1	1,000	1,000	1,000	0,768	0,214
K2	-	1,000	1,000	0,683	0,186
K3	-	-	1,000	1,000	1,000
K4	-	-	-	0,140	*0,029
K5	-	-	-	-	1,000

Keterangan: * Bermakna $p < 0,05$

Perbandingan rerata kadar PDGF kelompok dengan perlakuan *bioplacenton* beda bermakna dengan kelompok dosis 20%, berbeda dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya tidak memiliki perbedaan. Rerata kadar PDGF pada dosis 20% mengalami peningkatan signifikan jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan *bioplacenton*.

5.2 Pembahasan

Luka selalu dimulai dengan fase homeostasis, yang mencakup drainase sistem limfatik dan mencegah pendarahan. Kemudian, fase inflamasi berlangsung selama 1-3 hari, fase proliferasi berlangsung selama 4-14 hari, dan fase remodeling berlangsung selama 14hari -1 tahun.⁴⁷ Transisi dari fase inflamasi ke fase proliferasi adalah fase penting dalam penyembuhan luka.⁴⁸ Fase reparatif dipengaruhi oleh perpindahan makrofag M1 ke M2. Proliferasi, migrasi, dan diferensiasi keratinosit yang diatur, setidaknya sebagian, dikontrol

oleh produksi faktor pertumbuhan untuk reepitelisasi luka.⁴⁹

Hasil penelitian menunjukkan pengaruh penurunan rerata kadar IL-1 pada hari ke 3 setelah perlakuan dengan pemberian krim ekstrak buah delima dan mengalami penurunan sampai hari ke 7 setelah perlakuan. Analisis yang dilakukan setelah hari ke 3 menggambarkan kondisi inflamasi dari luka eksisi dimana fase inflamasi berlangsung selama 1-3 hari, pemeriksaan dianggap tepat untuk mendeteksi kadar sitokin pro inflamasi seperti IL-1, dengan menggunakan krim ekstrak buah delima dosis 20% efektif menurunkan kadar IL-1 sampai hari ke 7 setelah perlakuan lebih rendah dari kadar IL-1 pada kelompok dengan menggunakan *biolacenton*. Terjadi perubahan cepat pada mediator inflamasi yang diproduksi di dalam luka, dan IL-1 dengan cepat mengambil peran penting selama fase awal penyembuhan luka. Hasil penelitian ini sejalan dengan uji klinis yang menguji efek analgesik IL-1 yang memulai terapi setidaknya 1 jam sebelum sayatan, dan menganalisis dengan cermat efek pengobatan 1 hingga 4 hari setelah operasi. Efek IL-1 terhadap timbulnya bekas luka berlebih dan pembentukan keloid juga harus dipantau.⁵⁰

Peningkatan kadar IL-1 pada kelompok perlakuan krim ekstrak buah delima dosis 10% pada hari ke 7 setelah perlakuan mengalami peningkatan dipengaruhi oleh faktor lingkungan maupun genetik tikus yang dapat memicu inflamasi lain. IL-1 memainkan peran penting dalam proses inflamasi akut dengan menginduksi produksi prostaglandin, TNF- α , IL-6, dan IL-8, serta mediator inflamasi lainnya.³ IL-1 juga terlibat dalam regulasi respons imunologi tertentu, termasuk peningkatan regulasi molekul MHC (major

histocompatibility complex) dan stimulasi sel T. Sistem kekebalan diatur oleh sejumlah faktor, termasuk infeksi, peradangan, dan stres oksidatif. Sitokin IL-1, salah satu mediator utama dalam respons inflamasi, memiliki berbagai efek biologis pada sel lain, termasuk aktivasi sel T dan B, proliferasi sel imun, serta produksi sitokin dan mediator lainnya. Berbagai kelainan patologis, termasuk beberapa penyakit autoimun, kanker, artritis reumatoid, aterosklerosis, peradangan kronis, dan penyakit autoimun, dapat menyebabkan peningkatan ekspresi IL-1.^{26,27}

Hasil analisis kadar PDGF setelah hari ke 3 perlakuan tidak menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan karena pada berada pada fase inflamasi sehingga hasil rerata kadar PDGF tidak berpengaruh namun pemeriksaan pada hari ke 7 setelah perlakuan menunjukkan perbedaan signifikan pada kelompok perlakuan *bioplacenton* dibandingkan kelompok krim ekstrak buah delima dosis 20% yang mengalami peningkatan. Pemeriksaan kadar PDGF pada fase proliferasi yang berlangsung selama 4-14 dianggap tepat dianalisis pada hari ke 7 setelah perlakuan, pengamatan bertahap perlu dilakukan untuk mengetahui puncak kadar PDGF sampai hari ke 14. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang mengamati aktivitas ekstrak buah delima dengan metode imunohistokimia pada luka bekas pencabutan gigi mengalami peningkatan ekspresi PDGF yang merupakan indikator proses penyembuhan luka.¹⁹

Proliferasi (pembelahan dan pertumbuhan) dan migrasi (pergerakan) sel-sel penting, termasuk fibroblas, yang membantu pembentukan jaringan ikat dan

mempercepat proses penyembuhan, sering kali dirangsang oleh PDGF. Selain itu, PDGF merangsang produksi kolagen, elemen penting dalam perkembangan struktur luka. Untuk menjamin penyembuhan luka atau kerusakan yang efektif, PDGF membantu mengoordinasikan berbagai tahapan penyembuhan luka.⁴

Penelitian ini tidak mengamati dan memantau timbulnya bekas luka dan pembentukan keloid terhadap parameter yang dianalisis, pengamatan lebih lanjut perlu dilakukan dengan waktu lebih lama dan membandingkan dengan formulasi krim yang berbeda atau menggunakan gel maupun serum.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

6.1.1. Pemberian krim ekstrak buah delima (*Punica Granatum*) berpengaruh terhadap peningkatan kadar PDGF pada tikus pasca luka eksisi

6.1.2. Pemberian krim ekstrak buah delima (*Punica Granatum*) berpengaruh terhadap peningkatan kadar IL-1 pada tikus pasca luka eksisi

6.2. Saran

6.2.1. Penelitian berikutnya perlu dilakukan dengan mengganti formulasi krim ekstrak buah delima dengan formulasi gel atau serum untuk membandingkan efektifitas penyembuhan pada luka eksisi

6.2.2. Penelitian berikutnya dapat melakukan dengan parameter molekuler lainnya, pada kondisi luka pada kondisi kronis dengan perlakuan yang lebih lama serta mengamati dan memantau timbulnya bekas luka maupun pembentukan keloid terhadap parameter yang dianalisis

DAFTAR PUSTAKA

1. Jourdan M, Madfes DC, Lima E, Tian Y, Seité S. Skin care management for medical and aesthetic procedures to prevent scarring. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2019;12:799-804. doi:10.2147/CCID.S218134
2. Damayanti MM, Kartika Sari A, Furqoni AR. Effectiveness of natural lip balm cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) in accelerating the incision wound healing process in rattus norvegicus. Published online 2022. doi:10.24198/pjd.vol34no3.9593
3. Singh AK, Fechtner S, Chourasia M, Sicalo J, Ahmed S. Critical role of IL-1 α in IL-1 β -induced inflammatory responses: Cooperation with NF- κ Bp65 in transcriptional regulation. *FASEB Journal*. 2019;33(2):2526-2536. doi:10.1096/fj.201801513R
4. Folestad E, Kunath A, Wågsäter D. PDGF-C and PDGF-D signaling in vascular diseases and animal models. *Mol Aspects Med*. 2018;62:1-11. doi:10.1016/j.mam.2018.01.005
5. Szliszka E, Czuba ZP, Domino M, Mazur B, Zydowicz G, Krol W. Ethanolic Extract of Propolis (EEP) Enhances the Apoptosis- Inducing Potential of TRAIL in Cancer Cells. *Molecules*. 2009;14(2):738-754. doi:10.3390/molecules
6. Hajimonfarednejad M, Ostovar M, Rae MJ, Hashempur MH, Mayer JG, Heydari M. Cinnamon: A systematic review of adverse events. *Clinical Nutrition*. 2019;38(2):594-602. doi:10.1016/j.clnu.2018.03.013
7. Suliman RS, Ali H, Nurulain I, et al. Cinnamon bark extract for the formulation and characterisation of antimicrobial cream. *Inter J Res Ayurveda Pharm*. 2017;8(2):200-6. *Int J Res Ayurveda Pharm*. 2017;8(2):200-206. doi:10.7897/2277-4343.082113
8. Akbarnejad F. Dermatology Benefits of Punica Granatum: A Review of the Potential Benefits of Punica Granatum in Skin Disorders. *Asian Journal of Green Chemistry*. 2023;7(3):208-222. doi:10.22034/ajgc.2023.388077.1388
9. Shaygannia E, Bahmani M, Zamanzad B, Rafieian-Kopaei M. A Review Study on Punica granatum L. *J Evid Based Complementary Altern Med*. 2016;21(3):221-227. doi:10.1177/2156587215598039
10. Sinambela GN, Tandanu E, Ikhtiari R. The wound healing effect of *Morinda citrifolia* leaf extract and biomolecular analysis on inflammation and proliferation stages in Wistar rats. *Jurnal Teknologi Laboratorium*. 2022;11(2):52-59. doi:10.29238/teknolabjournal.v11i2.369
11. Kumar A, Mishra R, Singh VD, Mazumder A, Mazumder R, Kumar A. Wound Healing Activity of Punicalin and Punicalagin Isolated from Punica granatum L. *Rasayan Journal of Chemistry*. 2022;15(1):183-189. doi:10.31788/RJC.2022.1516639
12. Ramirez H, Patel SB, Pastar I. The Role of TGF β Signaling in Wound

- Epithelialization. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2014;3(7):482-491. doi:10.1089/wound.2013.0466
13. Kumar T, Malik R, Zahrah Maqbool S. Herbal plant with potential of wound healing activity: a review article. *www.wjpps.com* | . 2015;12:333. doi:10.20959/wjpps20233-24260
 14. Rahayu DUC, Hakim RA, Mawarni SA, Satriani AR. Indonesian Cinnamon (*Cinnamomum burmannii*): Extraction, Flavonoid Content, Antioxidant Activity, and Stability in the Presence of Ascorbic Acid. *Cosmetics*. 2022;9(3). doi:10.3390/cosmetics9030057
 15. Eghbali S, Askari SF, Avan R, Sahebkar A. Therapeutic Effects of *Punica granatum* (Pomegranate): An Updated Review of Clinical Trials. *J Nutr Metab*. 2021;2021. doi:10.1155/2021/5297162
 16. 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
 17. Nirwana I. Application of pomegranate (*Punica granatum* Linn.) fruit extract for accelerating post-tooth extraction wound healing. *Dent J*. 2018;51(4):189-193. doi:10.20473/j.djmk.v51.i4.p189-193
 18. Nema N, Arjariya S, Bairagi SM, Jha M, Kharya MD. *In Vivo Topical Wound Healing Activity of Punica Granatum Peel Extract on Rats.*; 2013. www.ajpct.org
 19. Nirwana I, Rachmadi P, Rianti D. Potential of pomegranate fruit extract (*Punica granatum* Linn.) to increase vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor expressions on the post-tooth extraction wound of *Cavia cobaya*. *Vet World*. 2017;10(8):999-1003. doi:10.14202/vetworld.2017.999-1003
 20. Evrova O, Buschmann J. In vitro and in vivo effects of PDGF-BB delivery strategies on tendon healing: A review. *Eur Cell Mater*. 2017;34:15-39. doi:10.22203/eCM.v034a02
 21. Manzat Saplacan RM, Balacescu L, Gherman C, et al. The Role of PDGFs and PDGFRs in Colorectal Cancer. *Mediators Inflamm*. 2017;2017. doi:10.1155/2017/4708076
 22. Farooqi AA, Siddik ZH. Platelet-derived growth factor (PDGF) signalling in cancer: Rapidly emerging signalling landscape. *Cell Biochem Funct*. 2015;33(5):257-265. doi:10.1002/cbf.3120
 23. Shen S, Wang F, Fernandez A, Hu W. Role of platelet-derived growth factor in type II diabetes mellitus and its complications. *Diab Vasc Dis Res*. 2020;17(7). doi:10.1177/1479164120942119
 24. Hu W, Zhang Y, Wang L, et al. Bone morphogenic protein 4-smad-induced upregulation of platelet-derived growth Factor AA impairs endothelial function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016;36(3):553-560. doi:10.1161/ATVBAHA.115.306302
 25. Mulholland EJ. Electrospun Biomaterials in the Treatment and Prevention of Scars in Skin Wound Healing. *Front Bioeng Biotechnol*.

- 2020;8. doi:10.3389/fbioe.2020.00481
26. Pyrillou K, Burzynski LC, Clarke MCH. Alternative Pathways of IL-1 Activation, and Its Role in Health and Disease. *Front Immunol*. 2020;11. doi:10.3389/fimmu.2020.613170
 27. Migliorini P, Italiani P, Pratesi F, Puxeddu I, Boraschi D. The IL-1 family cytokines and receptors in autoimmune diseases. *Autoimmun Rev*. 2020;19(9). doi:10.1016/j.autrev.2020.102617
 28. Yamakawa S, Hayashida K. Advances in surgical applications of growth factors for wound healing. *Burns Trauma*. 2019;7. doi:10.1186/s41038-019-0148-1
 29. Cavalli G, Colafrancesco S, Emmi G, et al. Interleukin 1 α : a comprehensive review on the role of IL-1 α in the pathogenesis and treatment of autoimmune and inflammatory diseases. *Autoimmun Rev*. 2021;20(3). doi:10.1016/j.autrev.2021.102763
 30. Eghbali S, Askari SF, Avan R, Sahebkar A. Therapeutic Effects of Punica granatum (Pomegranate): An Updated Review of Clinical Trials. *J Nutr Metab*. 2021;2021. doi:10.1155/2021/5297162
 31. Shaygannia E, Bahmani M, Zamanzad B, Rafieian-Kopaei M. A Review Study on Punica granatum L. *J Evid Based Complementary Altern Med*. 2016;21(3):221-227. doi:10.1177/2156587215598039
 32. Akbarnejad F. Dermatology Benefits of Punica Granatum: A Review of the Potential Benefits of Punica Granatum in Skin Disorders. *Asian Journal of Green Chemistry*. 2023;7(3):208-222. doi:10.22034/ajgc.2023.388077.1388
 33. Nayak SB, Rodrigues V, Maharaj S, Bhogadi VS. Wound healing activity of the fruit skin of Punica granatum. *J Med Food*. 2013;16(9):857-861. doi:10.1089/jmf.2012.0229
 34. Houston DMJ, Bugert J, Denyer SP, Heard CM. Anti-inflammatory activity of Punica granatum L. (Pomegranate) rind extracts applied topically to ex vivo skin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2017;112:30-37. doi:10.1016/j.ejpb.2016.11.014
 35. 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
 36. Mahdi Mirghazanfari S, Nassireslami E, Sheikh Asadi M, Dadpay M. Evaluation of wound healing activities of pomegranate (Punica granatum-Lythraceae) peel and pulp. *Journal of Research in Medical and Dental Science* |. 2018;6(3). doi:10.24896/jrmds.20186336
 37. Nourian Dehkordi A, Mirahmadi Babaheydari F, Chehelgerdi M, Raeisi Dehkordi S. Skin tissue engineering: Wound healing based on stem-cell-based therapeutic strategies. *Stem Cell Res Ther*. 2019;10(1). doi:10.1186/s13287-019-1212-2
 38. Wang PH, Huang BS, Horng HC, Yeh CC, Chen YJ. Wound healing. *Journal of the Chinese Medical Association*. 2018;81(2):94-101.

- doi:10.1016/j.jcma.2017.11.002
39. Priyandari Y, Arfina Titi Maulidah Umatjina S. *Getah Pohon Jarak (Jatropha Curcas) Topikal Mempercepat Lama Penyembuhan Luka Eksisi Mencit (Effect of Jarak Tree Topical Increase Wound Healing Excision Period of Mice)*.
 40. MacLeod AS, Mansbridge JN. The Innate Immune System in Acute and Chronic Wounds. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2016;5(2):65-78. doi:10.1089/wound.2014.0608
 41. Čoma M, Fröhlichová L, Urban L, et al. Molecular Changes Underlying Hypertrophic Scarring Following Burns Involve Specific Deregulations at All Wound Healing Stages (Inflammation, Proliferation and Maturation). *Int J Mol Sci*. 2021;22(2):897. doi:10.3390/ijms22020897
 42. Cahya RW, Yudaniyanti IS, Wibawati PA, Yunita MN, Triakoso N, Saputro AL. The Effect of Sukun Leaf (*Artocarpus altilis*) Extract on Collagen Density of Excision Wound Healing in Albino Rats (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Medik Veteriner*. 2020;3(1):25-30. doi:10.20473/jmv.vol3.iss1.2020.25-30
 43. Prastika DD, Setiawan B, Saputro AL, Yudaniyanti IS, Wibawati PA, Fikri F. Effect of Shrimp Chitosan Topically on Collagen Density as Excision Wound Healing Parameter in Albino Rats. *Jurnal Medik Veteriner*. 2020;3(1):101-107. doi:10.20473/jmv.vol3.iss1.2020.101-107
 44. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther*. 2017;2. doi:10.1038/sigtrans.2017.23
 45. Rima. 2022. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kelor Terhadap Ekspresi Gen PDGF dan Alpha SMA.
 46. Sari N, Samsul E, Narsa AC. Pengaruh Trietanolamin pada Basis Krim Minyak dalam Air yang Berbahan Dasar Asam Stearat dan Setil Alkohol. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. 2021;14:70-75. doi:10.25026/mpc.v14i1.573
 47. Putra A, Alif I, Hamra N, et al. *MSC-Released TGF- β Regulate α -SMA Expression of Myofibroblast during Wound Healing*. *Journal of Stem Cells & Regenerative Medicine*.; 2020.
 48. Xiao S, Huang G, Wei Z, et al. IL-10 Gene-modified human amniotic mesenchymal stem cells augment regenerative wound healing by multiple synergistic effects. *Stem Cells Int*. 2019;2019. doi:10.1155/2019/9158016
 49. MacLeod AS, Mansbridge JN. The Innate Immune System in Acute and Chronic Wounds. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2016;5(2):65-78. doi:10.1089/wound.2014.0608
 50. Hu Y, Liang D, Li X, et al. The role of interleukin-1 in wound biology. part II: In vivo and human translational studies. *Anesth Analg*. 2010;111(6):1534-1542. doi:10.1213/ANE.0b013e3181f691eb