

**PENGARUH KRIM EKSTRAK MENGGUDU (*Morinda*
Citrifolia L) TERHADAP KADAR IL-1
DAN EKSPRESI PDGF**

**(Studi Eksperimental in vivo pada jaringan kulit tikus Wistar
model luka iris)**

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat
Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Ariyanti Putri

MBK2219010274

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG 2025**

TESIS
**PENGARUH KRIM EKSTRAK MENGGUDU (*Morinda*
Citrifolia L) TERHADAP KADAR IL-1
DAN EKSPRESI PDGF**

(Studi Eksperimental in vivo pada jaringan kulit tikus Wistar
model luka iris)

Disusun Oleh:

Ariyanti Putri

MBK2219010274

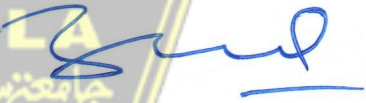
Telah dipertahankan didepan Tim Penguji
Kamis, 28 Agustus 2025
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui.

Pembimbing 1

Pembimbing 2


Dr. dr. Sri Priyanti Mulyani, Sp. A
NIK 210.105.097


Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS
NIK. 210113160

Menyetujui,

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



Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS
NIK. 210113160

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.

Semarang, Agustus 2025



Ariyanti Putri

MBK2219010274



RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Ariyanti Putri
Tempat / tanggal lahir : Cirebon, 4 Februari 1992
Agama : Islam
Jenis kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK Cempaka Putih Kabupaten Cirebon : Lulus tahun 1998
2. SDN 2 Kebon Baru Kota Cirebon : Lulus tahun 2004
3. SMPN 5 Kota Cirebon : Lulus tahun 2007
4. SMAN 1 Kota Cirebon : Lulus tahun 2010
5. S1 Fakultas Kedokteran Trisakti : Lulus tahun 2014
6. Profesi Dokter FK Trisakti : Lulus tahun 2017
7. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : 2022 - Sekarang

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Suami : Yoga Wahyu Permadi, SIK, MH
2. Nama Anak :
 1. Endra Manggala Pramudya Permadi
 2. Andra Arcadia Permadi
 3. Indra Rafassya Permadi

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

Dalam rangka menyelesaikan program studi S2, penulis menyusun tesis penelitian dengan judul "Pengaruh krim ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap kadar IL-1 dan ekspresi PDGF pada jaringan kulit tikus model luka iris". Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh krim ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) sebagai bahan alami dalam membantu proses penyembuhan luka pada kulit.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode eksperimental pada sampel tikus putih galur wistar. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian ekstrak mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada tikus yang mengalami luka dapat menurunkan ekspresi sitokin IL-1 dan PDGF pada jaringan kulit. Temuan ini menunjukkan bahwa ekstrak mengkudu memiliki potensi sebagai bahan alami yang dapat membantu proses penyembuhan luka pada kulit.

Penulis mengharapkan bahwa penyusunan tesis penelitian ini dapat memberikan wawasan baru dan kontribusi positif bagi pengembangan ilmu kedokteran dan farmasi, serta menjadi referensi bagi para peneliti dan praktisi yang tertarik untuk mengeksplorasi potensi bahan alami sebagai obat-obatan atau suplemen kesehatan. Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penelitian ini, rasa hormat dan ucapan terima kasih sebesar-besarnya saya ucapkan kepada:

1. Prof. Dr. H. Gunarto, S.H, M.Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

2. Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H, Sp.KF selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang dan sekaligus sebagai penguji.
3. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik dan selaku pembimbing II yang telah memberikan semangat dalam penyusunan tesis ini.
4. Dr. dr. Sri Priyantini Mulyani, Sp.A selaku pembimbing I dalam penelitian yang telah memberikan arahan dan saran yang konstruktif dalam penelitian ini.
5. Dr. dr. Hj. Chodidjah, M.Kes dan Dr. dr. H. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes sebagai dosen penguji yang telah memberikan banyak perhatian, kritik, serta saran selama penyusunan tesis ini.
6. Kedua Orang Tua, suami dan anak-anak tercinta yang telah memberikan doa, semangat, dukungan sehingga tesis ini dapat diselesaikan dengan baik.

Akhir kata, semoga tesis ini bermanfaat dan dapat memberikan kontribusi nyata bagi kemajuan ilmu pengetahuan dan kesehatan.

Semarang, Agustus 2025



Ariyanti Putri
MBK2219010274

DAFTAR ISI

	Halaman
TESIS	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR SINGKATAN	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xii
ABSTRAK.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Teoritis	5
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5
1.5 Originalitas Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Kadar IL-1	8
2.2 Ekspresi PDGF	12

2.3 Faktor yang mempengaruhi kadar IL-1 dan ekspresi PDGF	16
2.4 Tanaman Mengkudu.....	17
2.5 Luka iris.....	25
2.6 Hubungan kadar IL-1 dan ekspresi PDGF terhadap penyembuhan luka iris	28
BAB III KERANGKA TEORI,KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....	31
3.1 Kerangka Teori.....	31
3.2 Kerangka Konsep	34
3.3 Hipotesis Penelitian.....	34
BAB IV METODE PENELITIAN.....	35
4.1 Jenis penelitian dan rancangan penelitian	35
4.2 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	36
4.2.1 Variabel Bebas	36
4.2.2 Variabel Terikat.....	37
4.2.3 Definisi Operasional.....	37
4.3 Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian.....	38
4.3.1 Subyek Penelitian	38
4.3.2 Sampel Penelitian	38
4.4 Teknik Pengambilan Sampel Penelitian	39
4.5 Besar sampel.....	39
4.6 Alat dan Bahan	40
4.7 Cara Penelitian.....	41
4.7.1 Perizinan Ethical Clearance.....	41
4.7.2 Persiapan sampel	41
4.7.3 Pembuatan ekstrak buah mengkudu	41
4.7.4 Pembuatan krim ekstrak buah mengkudu	42

4.7.5 Perlakuan model luka iris pada kulit tikus	43
4.7.6 Pengambilan Sampel Jaringan untuk pemeriksaan metode ELISA	44
4.7.7 Pengukuran kadar IL-1 menggunakan ELISA	45
4.7.8 Preparasi jaringan, ekstraksi DNA dan Analisis PCR terhadap ekspresi PDGF	47
4.8 Tempat dan Waktu Penelitian.....	49
4.9 Analisa Data	49
4.10 Alur Penelitian.....	51
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	52
5.1 Hasil Penelitian.....	52
5.1.1 Hasil Analisis Kandungan Flavonoid dan Fenol Total Ekstrak Buah Mengkudu ..	52
5.1.2 Gambaran makroskopis pada tikus Wistar model luka iris	54
5.1.3 Hasil pemeriksaan kadar IL-1 jaringan kulit tikus setelah hari ke 7 perlakuan	56
5.1.4 Hasil pemeriksaan Ekspresi PDGF jaringan kulit setelah hari ke 7 perlakuan.....	57
5.2 Pembahasan	60
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	65
6.1. Kesimpulan.....	65
6.2. Saran.....	65
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN	72
Lampiran 1. Ethical Clearance	72
Lampiran 2. Surat keterangan penelitian dan hasil pemeriksaan kadungan flavonoid dan fenol.....	73
Lampiran 3. Hasil PCR.....	77
Lampiran 4. Hasil ELISA.....	80
Lampiran 5. Hasil Analisis statistik (SPSS 27.0)	81
Lampiran 6. Dokumentasi Kegiatan Penelitian.....	86

DAFTAR SINGKATAN



AP-1	: <i>Activator Protein-1</i>
α -SMA	: <i>Alpha-Smooth Muscle Actin</i>
bFGF	: <i>Basic Fibroblast Growth Factor</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
IFN- γ	: <i>Interferon-gamma</i>
IGF	: <i>Insulin-Like Growth Factor</i>
IL-1	: <i>Interleukin-1</i>
IL-1 α	: <i>Interleukin-1 alpha</i>
IL-1 β	: <i>Interleukin-1 beta</i>
IL-1Ra	: <i>Interleukin-1 Receptor Antagonist</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
IL-8	: <i>Interleukin-8</i>
MHC	: <i>Major Histocompatibility Complex</i>
MMP	: <i>Matrix Metalloproteinase</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of Activated B Cells</i>
NSAID	: <i>Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug</i>
PDGF	: <i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
PDGFR	: <i>Platelet-Derived Growth Factor Receptor</i>
PGE2	: <i>Prostaglandin E2</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>

TGF- α : Transforming Growth Factor-alpha

TGF- β : *Transforming Growth Factor-beta*

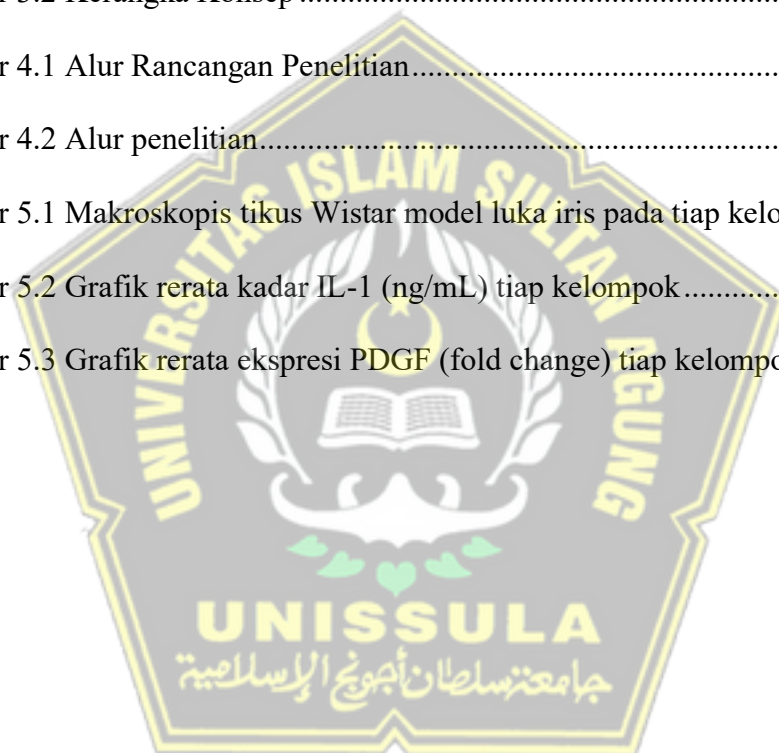
TNF- α : *Tumor Necrosis Factor-alpha*

VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Proses Penyembuhan luka.....	11
Gambar 2.2 Aktivasi PDGF pada cedera.....	14
Gambar 2.3 Pensinyalan PDGF.	15
Gambar 3.1 Kerangka Teori.....	33
Gambar 3.2 Kerangka Konsep	34
Gambar 4.1 Alur Rancangan Penelitian.....	36
Gambar 4.2 Alur penelitian.....	51
Gambar 5.1 Makroskopis tikus Wistar model luka iris pada tiap kelompok.....	54
Gambar 5.2 Grafik rerata kadar IL-1 (ng/mL) tiap kelompok.....	57
Gambar 5.3 Grafik rerata ekspresi PDGF (fold change) tiap kelompok.....	59



DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian.....	5
Tabel 5.1 Hasil uji deskriptif rerata kadar IL-1 (ng/mL) dan uji One way anova	56
Tabel 5.2 Hasil uji deskriptif rerata ekspresi PDGF (fold change) dan One way anova setelah hari ke 7 perlakuan	58



ABSTRAK

Latar belakang: Penyembuhan luka merupakan proses kompleks yang melibatkan fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling. Luka iris yang tidak ditangani dengan baik dapat menyebabkan infeksi dan pembentukan jaringan parut. Ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) diketahui memiliki sifat antiinflamasi dan regeneratif, namun bukti ilmiah terhadap pengaruhnya pada penyembuhan luka iris masih terbatas.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh krim ekstrak buah mengkudu terhadap kadar *Interleukin-1* (IL-1) dan ekspresi *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF) pada jaringan kulit tikus Wistar model luka iris.

Metode: Penelitian eksperimental ini menggunakan rancangan *post-test only control group design* dengan lima kelompok, yaitu kelompok sehat, kontrol negatif (basic cream), kontrol positif (salep povidone iodine), serta dua kelompok perlakuan dengan krim ekstrak mengkudu dosis 15% dan 30%. Perlakuan diberikan secara topikal selama 7 hari. Kadar IL-1 diukur dengan metode ELISA dan ekspresi PDGF dianalisis menggunakan RT-qPCR.

Hasil: Kadar IL-1 lebih rendah pada kelompok Krim EBM 30% ($8,17 \pm 1,01$ ng/mL), diikuti Kelompok Sehat ($8,50 \pm 1,24$ ng/mL), Basic Cream ($8,65 \pm 1,60$ ng/mL), Krim EBM 15% ($9,27 \pm 1,29$ ng/mL), dan lebih tinggi pada Povidone Iodine ($10,49 \pm 1,44$ ng/mL), sedangkan ekspresi PDGF lebih tinggi pada kelompok Krim EBM 15% ($1,11 \pm 0,08$), diikuti Krim EBM 30% ($1,01 \pm 0,09$), Basic Cream ($0,97 \pm 0,11$), Kelompok Sehat ($0,95 \pm 0,70$), dan lebih rendah pada Povidone Iodine ($0,94 \pm 0,09$). Pemberian krim ekstrak buah mengkudu cenderung menurunkan kadar IL-1 serta meningkatkan ekspresi PDGF dibandingkan kelompok kontrol, meskipun perubahan ini tidak signifikan secara statistik (IL-1 $p=0,088$; PDGF $p=0,056$).

Kesimpulan: Krim ekstrak buah mengkudu tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap penurunan kadar IL-1 maupun peningkatan ekspresi PDGF, namun memperlihatkan adanya kecenderungan positif menuju perbaikan melalui mekanisme modulasi inflamasi dan stimulasi faktor pertumbuhan.

Kata kunci: *Morinda citrifolia*, IL-1, PDGF, luka iris, krim topikal.

ABSTRACT

Background: Wound healing is a complex process involving the phases of hemostasis, inflammation, proliferation, and remodeling. Incised wounds that are not properly managed may lead to infection and the formation of suboptimal scar tissue. The extract of noni fruit (*Morinda citrifolia* L.) is known for its anti-inflammatory and regenerative properties; however, scientific evidence regarding its effect on incised wound healing remains limited.

Objective: This study aimed to evaluate the effect of noni fruit extract cream on Interleukin-1 (IL-1) levels and Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) expression in the skin tissue of Wistar rats with incised wounds.

Methods: This experimental study employed a post-test only control group design consisting of five groups: healthy controls, negative controls (basic cream), positive controls (povidone iodine ointment), and two treatment groups receiving topical noni extract cream at concentrations of 15% and 30%. Treatment was applied once daily for 7 days. IL-1 levels were measured using the ELISA method, and PDGF expression was analyzed using RT-qPCR.

Results: IL-1 levels were lower in the 30% EBM cream group (8.17 ± 1.01 ng/mL), followed by the Healthy group (8.50 ± 1.24 ng/mL), Basic Cream (8.65 ± 1.60 ng/mL), 15% EBM cream (9.27 ± 1.29 ng/mL), and higher in the Povidone Iodine group (10.49 ± 1.44 ng/mL). Meanwhile, PDGF expression was higher in the 15% EBM cream group (1.11 ± 0.08), followed by the 30% EBM cream (1.01 ± 0.09), Basic Cream (0.97 ± 0.11), Healthy group (0.95 ± 0.70), and lower in the Povidone Iodine group (0.94 ± 0.09). Administration of noni fruit extract cream tended to reduce IL-1 levels and increase PDGF expression compared to the control groups, although these changes were not statistically significant (IL-1 $p=0.088$; PDGF $p=0.056$).

Conclusion: Noni fruit extract cream did not show a significant effect on the reduction of IL-1 levels or the increase of PDGF expression; however, it demonstrated a positive tendency toward improvement through mechanisms of inflammatory modulation and stimulation of growth factors.

Keywords: *Morinda citrifolia*, IL-1, PDGF, incised wound, topical cream.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyembuhan luka merupakan proses biologis yang kompleks dan dinamis, melibatkan tahapan hemostasis, inflamasi, proliferasi, hingga remodeling jaringan.¹ Luka ringan, seperti luka iris yang mencapai dermis atas, kerap dianggap tidak memerlukan perawatan khusus dan dibiarkan sembuh secara alami, hal ini berpotensi luka mengalami infeksi, penyembuhan yang lambat, dan pembentukan jaringan parut yang kurang optimal.² Penggunaan antiseptik meskipun bermanfaat dalam proses penyembuhan luka juga memiliki keterbatasan termasuk potensi iritasi dan gangguan mikrobiota kulit.³ Perlunya alternatif perawatan topikal yang lebih aman, efektif, dan mudah digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Salah satu bahan alami yang berpotensi digunakan adalah ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yang diketahui memiliki sifat antiinflamasi, antimikroba, serta kemampuan mempercepat regenerasi jaringan. Kandungan bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, dan asam askorbat dalam mengkudu juga dilaporkan mampu menekan produksi sitokin proinflamasi seperti *Interleukin-1* (IL-1) dan meningkatkan ekspresi *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF) yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka.^{4,5} Namun efektivitas dan mekanisme kerja ekstrak buah mengkudu terhadap penyembuhan luka iris, masih memerlukan penelitian lebih lanjut.

Prevalensi kejadian luka di Indonesia tercatat sebesar 8,2%. Jenis luka yang paling umum adalah luka lecet (67,0%), diikuti oleh luka iris (27,8%), terkilir

(20,9%), patah tulang (4,0%), dan anggota tubuh terputus (0,6%). Selain itu, sebuah penelitian menunjukkan bahwa dari 197 kasus kematian akibat kekerasan tajam, 11,2% di antaranya disebabkan oleh luka iris.⁶ Luka dalam aktivitas sehari-hari dapat terjadi akibat kecelakaan rumah tangga seperti luka iris saat memasak, jatuh terpeleset, luka lecet saat berolahraga, luka iris karena kecelakaan kerja pada pegawai pabrik, pegawai konstruksi, hingga tenaga medis pun kerap terjadi. Tingginya prevalensi kejadian luka dalam aktivitas sehari-hari menunjukkan perlunya strategi pencegahan dan pengobatan yang efektif, termasuk penggunaan agen topikal alami untuk mempercepat penyembuhan dan mencegah komplikasi.⁵ Perbedaan angka prevalensi ini menunjukkan bahwa kejadian luka dalam aktivitas sehari-hari di Indonesia cukup signifikan dan memerlukan perhatian khusus dalam pencegahan dan penanganannya.⁶

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa ekstrak buah mengkudu memiliki potensi dalam mempercepat proses penyembuhan luka. Penelitian sebelumnya dengan aplikasi krim ekstrak buah mengkudu konsentrasi 10% memiliki jumlah rata-rata sel fibroblas terbesar dari pada konsentrasi 5% dan 20%. Penelitian lainnya melaporkan aplikasi dengan salep ekstrak buah mengkudu konsentrasi 20% dan 30% pada luka insisi *tikus galur Wistar* secara signifikan meningkatkan jumlah kolagen. Dimana kolagen sangat berperan penting dalam proses regenerasi jaringan.⁵ Perasan buah mengkudu diketahui efektif menurunkan jumlah neutrofil lebih cepat pada luka gores, pemberian perasan selama tiga hari memberikan hasil terbaik dalam mengurangi neutrofil pada hapusan darah mencit.⁷ Lebih lanjut, penggunaan hidrogel yang mengandung ekstrak mengkudu sebagai pembalut luka

infeksi menawarkan manfaat ganda, yakni membunuh mikroba penyebab infeksi serta melindungi luka dari kontaminasi eksternal. Dengan segala potensinya, buah mengkudu bukan hanya sekadar buah herbal, tetapi juga obat fitofarmaka yang efektif dalam penyembuhan luka.⁸

Luka iris adalah sayatan yang menembus epidermis hingga dermis, memicu respon biologis melalui fase hemostasis, inflamasi, dan proliferasi. Pada fase hemostasis, trombosit membentuk bekuan darah dan melepaskan PDGF. Fase inflamasi ditandai oleh aktivasi neutrofil dan makrofag yang melepaskan IL-1 untuk meningkatkan permeabilitas pembuluh darah dan menimbulkan inflamasi lokal.^{2,9} Fase proliferasi ditandai dengan peran PDGF dalam merekrut fibroblas, merangsang sintesis kolagen, dan mempercepat *re-epitelisasi* kulit.¹⁰ Ekstrak buah mengkudu memiliki peran penting dalam mempercepat penyembuhan luka melalui mekanisme antiinflamasi dan antioksidan.⁷ Pada fase inflamasi, senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, dan asam askorbat dalam mengkudu menghambat jalur NF- κ B, menurunkan kadar IL-1, dan mengurangi respon inflamasi berlebihan. Pada fase proliferasi, ekstrak mengkudu meningkatkan ekspresi PDGF melalui aktivasi jalur PI3K/Akt dan efek antioksidan yang menurunkan stres oksidatif. Antioksidan dalam mengkudu juga bertindak sebagai *scavenger* radikal bebas, melindungi sel fibroblas dari kerusakan oksidatif dan mendukung ekspresi PDGF untuk regenerasi jaringan.¹⁰ Dengan menghambat jalur MAPK yang biasanya dipicu oleh ROS, ekstrak mengkudu menciptakan kondisi optimal untuk pembentukan jaringan baru dan mempercepat proses penyembuhan luka.¹¹

Pada penelitian sebelumnya dengan pemberian krim ekstrak buah mengkudu

dosis 5%, 10%, dan 20% memberikan hasil peningkatan jumlah rerata fibroblas. Hasil tertinggi terdapat pada ekstrak krim buah mengkudu dosis 10%. Dan penelitian lain didapatkan peningkatan jumlah kolagen pada pengaplikasian salep ekstrak buah mengkudu dosis 20% dan 30% pada luka insisi tikus galur wistar. Belum ada penelitian yang mengevaluasi pengaruh krim ekstrak buah mengkudu dosis 15% dan 30% terhadap kadar IL-1 dan ekspresi PDGF pada jaringan kulit tikus wistar pasca luka iris. Oleh karena itu, peneliti bertujuan untuk membuat penelitian baru dengan krim ekstrak buah mengkudu dosis 15% dan 30% terhadap kadar IL 1 dan ekspresi PDGF pada jaringan kulit tikus *wistar* pasca luka iris.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ada pengaruh pemberian krim ekstrak buah mengkudu terhadap kadar IL-1 dan ekspresi PDGF pada jaringan kulit tikus *wistar* model luka iris?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum pada penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh krim ekstrak buah mengkudu terhadap kadar IL-1 dan ekspresi PDGF pada jaringan kulit tikus *wistar* model luka iris.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui perbedaan kadar IL-1 antara kelompok yang diberikan krim ekstrak buah mengkudu dosis 15% dan 30% dibandingkan dengan kelompok kontrol yang lain.

2. Untuk mengetahui perbedaan ekspresi PDGF antara kelompok yang diberikan krim ekstrak buah mengkudu dosis 15% dan 30% dibandingkan dengan kelompok kontrol yang lain.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Memberikan informasi mengenai efektivitas krim ekstrak buah mengkudu dalam mengurangi peradangan pada tingkat molekuler, khususnya dalam menurunkan ekspresi IL-1 dan meningkatkan ekspresi PDGF.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar dalam pengembangan produk-produk terapeutik yang mengandung ekstrak mengkudu sebagai agen anti-inflamasi dalam mengurangi peradangan pada luka iris.

1.5 Originalitas Penelitian

Penelitian ini berfokus pada proses pengembangan terapi alternatif dalam mengatasi peradangan/inflamasi pasca luka iris yang merupakan masalah umum dalam prosedur bedah. Berikut adalah poin-poin originalitas yang membedakan penelitian ini dengan penelitian-penelitian sebelumnya:

1. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi efek krim ekstrak buah mengkudu pada jaringan kulit tikus model luka iris, khususnya pada tingkat molekuler melalui pengukuran ekspresi sitokin proinflamasi IL-1 dan sitokin antiinflamasi PDGF.

2. Penelitian ini ingin membuktikan efek krim ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) sebagai agen anti-inflamasi pada jaringan kulit mencit putih galur wistar pasca luka iris dalam tingkat molekuar.
3. Penelitian ini dapat memberikan kontribusi dalam mengembangkan alternatif baru untuk mengatasi peradangan pasca luka iris, khususnya yang bersifat alami dan aman, sehingga dapat meningkatkan kualitas hidup pasien dan mengurangi risiko efek samping obat-obatan sintetik, sertasebagai pelengkap dari terapi konvensional.

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

Peneliti	Judul	Metode	Kesimpulan
Haestidyatami VL, Sugiritama IW, Linawati NM. (2019). ¹²	Pengaruh ekstrak krim <i>Morinda citrifolia</i> terhadap jumlah fibroblas pada penyembuhan luka tikus Wistar	Eksperimental <i>In Vivo</i>	Jumlah sel fibroblas bervariasi secara signifikan antara kelompok kontrol krim ekstrak buah <i>Morinda citrifolia</i> 5%, 10%, dan 20%. Krim ekstrak 10% memiliki jumlah rata-rata sel fibroblas terbesar.
Brilliant GA (2020). ⁵	Pengaruh Ekstrak <i>Morinda citrifolia</i> L. Terhadap penyembuhan luka insisi.	Eksperimental <i>In Vivo</i>	Jumlah kolagen mengalami perbedaan yang signifikan setelah aplikasi salep ekstrak buah mengkudu dengan dosis 20% dan 30% pada luka insisi pada tikus galur Wistar. ⁵

Fikri K. 2015. ⁷	Potensi Buah Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i> L.) sebagai Anti Radang Pada Luka Gores Mencit Jantan	Eksperimen ental <i>In Vivo</i>	Perasan buah mengkudu terbukti efektif dalam menurunkan jumlah neutrofil lebih cepat pada radang luka gores. Pemberian perasan ini selama tiga hari menunjukkan hasil terbaik dalam mengurangi jumlah neutrofil pada hapusan darah mencit, menandakan potensi buah mengkudu dalam mempercepat proses penyembuhan luka melalui pengurangan respon inflamasi akut.
Darwis, D., Basyir, T. E., Hardiningsih, L., & Chosdu, R. (2013). ⁸	Uji daya antimikroba dan sifat fisiko-kimia pembalut luka hidrogel steril radiasi yang mengandung ekstrak buah mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i> L.).	Eksperimen ental <i>In Vitro</i>	Hidrogel (<i>Polyvinyl pyrrolidone</i>) PVP yang mengandung ekstrak mengkudu sangat potensial sebagai pembalut luka infeksi karena dapat membunuh mikroba yang menginfeksi luka, berfungsi sebagai penghalang terhadap masuknya mikroba dari luar tubuh, dapat mengabsorpsi eksudat luka, mempunyai kekuatan mekanik yang cukup dan elastis.
Sinambela GN, Tandanu E, Ikhtiari R. (2022). ¹³	<i>The wound healing effect of Morinda citrifolia leaf extract and biomolecular analysis on inflammation and proliferation stages in Wistar rats.</i>	Eksperimen ental <i>In Vivo</i>	Efek dari ekstrak daun mengkudu pada berbagai konsentrasi 20%, 25%, dan 30% pada jumlah fibroblas, diameter luka, waktu penyembuhan, PDGF, IL-1, dan TGF- β , dimana konsentrasi optimum dari ekstrak mengkudu pada kelompok perlakuan adalah 20%. ¹³

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Peneliti mengendalikan variabel bebas dalam penelitian ini, yaitu dosis pemberian ekstrak mengkudu, variabel tergantung berupa hasil yang diukur, yaitu ekspresi sitokin IL-1 dan PDGF pada jaringan kulit tikus setelah mengalami luka iris. Penjelasan mengenai variabel-variabel tersebut disajikan dalam tinjauan pustaka berikut.

2.1 Kadar IL-1

IL-1 (*Interleukin-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.¹⁴ IL-1 terlibat dalam regulasi respon imun dan inflamasi, serta berperan dalam pengaturan pertumbuhan dan diferensiasi sel-sel dalam tubuh²⁶. Sitokin diproduksi oleh sel secara spesifik, berperan sebagai sitokin pro-inflamasi atau sitokin anti-inflamasi. Berdasarkan asalnya, sitokin dikenal sebagai limfokin (berasal dari limfosit), monokin (berasal dari monosit), dan *interleukin* (berasal dari leukosit).¹⁵

IL-1 berperan penting dalam proses peradangan akut dengan merangsang pelepasan mediator-mediator inflamasi lainnya, seperti TNF- α , IL-6, IL-8, dan prostaglandin.¹⁶ IL-1 juga berperan dalam memodulasi respons imun spesifik, seperti meningkatkan ekspresi molekul MHC (*major histocompatibility complex*) dan mengaktifkan limfosit T. Sitokin IL-1 sebagai salah satu mediator utama dalam respons inflamasi memainkan peran penting dalam sistem kekebalan tubuh, diatur

oleh berbagai faktor, seperti infeksi, inflamasi, stres oksidatif, dan memiliki berbagai efek biologis pada sel-sel lain, seperti aktivasi sel-sel T dan B, proliferasi sel-sel imun, dan produksi sitokin dan mediator lainnya. Peningkatan ekspresi IL-1 dapat terjadi pada berbagai kondisi patologis, seperti penyakit autoimun, inflamasi kronis, arthritis reumatoid, aterosklerosis, beberapa penyakit autoimun dan kanker.^{14,15}

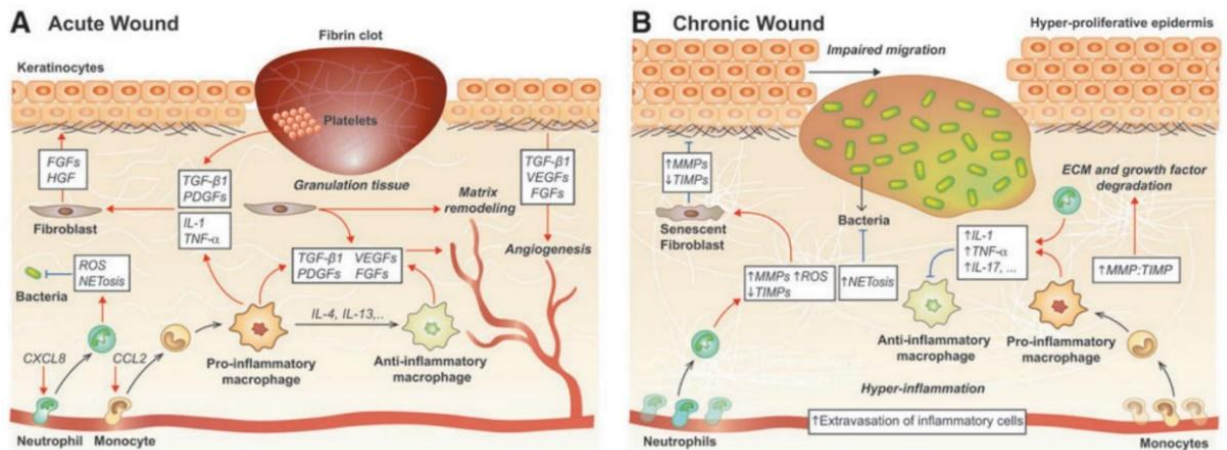
Sebanyak 11 jenis *interleukin* terlibat langsung dalam peradangan tahap lanjut dibandingkan dengan sitokin lainnya. *Interleukin-1* berperan meningkatkan kekebalan nonspesifik terhadap infeksi sebagai bagian dari *innate immunity*, serta mengembangkan respons imun terhadap antigen asing sebagai *acquired immunity*, yang bekerja secara bersamaan dalam merespons inflamasi.¹⁴

Interleukin-1 memiliki dua bentuk utama yang berperan penting dalam respon inflamasi, yaitu IL-1 α (*IL-1 alpha*) dan IL-1 β (*IL-1 beta*).¹⁶ Sitokin tersebut dihasilkan melalui aktivasi enzim *protease*, seperti *caspase* dan *calpain* yang terlibat dalam kematian sel dan peradangan. Regulasi *caspase-8* dalam apoptosis secara khusus mempengaruhi pemrosesan dan pelepasan IL-1 β . Di sisi lain, nekroptosis menyebabkan pemrosesan dan pelepasan IL-1 α , namun tidak tergantung pada pemrosesan dan pelepasan IL-1 β .¹⁷ Peran IL-1 β telah banyak diteliti sebagai pendukung sistem pertahanan tubuh dalam melawan infeksi pada penyakit autoinflamasi. Sedangkan *calpain* adalah pretease sistein diaktifkan oleh kalsium memiliki peran utama dalam pemrosesan prekursor IL-1 α menjadi bentuk molekul yang matang.¹⁶

IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) berfungsi sebagai modulator respons

inflamasi dengan menghambat efek IL-1 α dan IL-1 β . Kedua jenis *interleukin-1* tersebut memiliki perbedaan dalam struktur, fungsi, dan mekanisme kerjanya.¹⁶ IL-1 α dihasilkan oleh berbagai jenis sel, termasuk sel epitel dan sel imun, dan biasanya terikat pada membran sel di permukaan sel target. IL-1 α (*hematopoietin 1*) dikode oleh gen *IL1A* yang memiliki aktivitas fisiologis, metabolik, dan hematopoietik, serta memainkan salah satu peran sentral dalam regulasi respons kekebalan.¹⁴ *Interleukin 1 α* (IL-1 α) disintesis dalam bentuk 33 kDa dan mengalami pemrosesan proteolitik menjadi bentuk 17 kDa, IL-1 α berikatan dengan reseptor IL-1 dan terletak pada jalur pengaktifan TNF- α . Sedangkan IL-1 β dikode oleh gen *IL1B* dan sebagai proprotein yang diproses secara proteolitik menjadi bentuk aktif atau matang oleh *caspase 1*.¹⁵

Mekanisme aktivasi IL-1 α melibatkan pengikatan langsung pada reseptor IL-1 pada sel target, yang mengaktifkan jalur sinyal intraseluler yang mengarah pada produksi berbagai mediator inflamasi, seperti prostaglandin.¹⁸ IL-1 β yang dihasilkan oleh sel imun seperti makrofag dan sel dendritik, dilepaskan ke dalam sirkulasi darah sebagai respons terhadap infeksi atau kerusakan jaringan. Setelah dilepaskan, IL-1 β berinteraksi dengan reseptor IL-1 pada sel target, mengaktifkan jalur sinyal yang mirip dengan IL-1 α . Selain itu, IL-1 β dapat merangsang produksi protein pengikat reseptor IL-1 (IL-1Ra), yang bertindak sebagai antagonis reseptor IL-1 dan mencegah aksi IL-1 β pada sel target.¹⁵ Menginduksi efek proinflamasi, IL-1 α dan IL-1 β bekerja secara sinergis dengan mediator lain seperti TNF α .¹⁸



Gambar 2.1 Proses Penyembuhan luka.¹⁹

(A) Penyembuhan luka akut dihasilkan dari serangkaian peristiwa yang terkoordinasi dengan baik yang dibagi menjadi empat fase yang saling tumpang tindih: hemostasis, inflamasi, proliferasi/deposisi matriks, dan remodeling jaringan. Neutrofil dan makrofag sangat penting dalam memediasi proses ini, meskipun sel T dan trombosit juga memainkan peran penting.

(B) Tingginya jumlah sel inflamasi dan pembentukan biofilm menghalangi pemulihan homeostasis jaringan pada luka kronis. Sekresi mediator inflamasi yang berlebihan menyebabkan degradasi faktor pertumbuhan dan ECM serta mencegah konversi fenotip makrofag, yang menciptakan loop feed-forward yang mencegah resolusi. Panah hitam menunjukkan diferensiasi, panah biru menunjukkan penghambatan, dan panah merah menunjukkan induksi. ECM, matriks ekstraseluler.¹⁹

Makrofag proinflamasi juga mensekresi mediator inflamasi seperti TNF- α , IL-17 dan IL-1 β , ROS, dan oksida nitrat yang dapat diinduksi synthase (iNOS), yang memiliki efek negatif lingkungan mikro luka pada konsentrasi tinggi.²⁰

kelebihan ROS mengganggu keseimbangan oksidan/antioksidan. Hal ini tidak hanya meningkatkan jalur sinyal yang mengatur sekresi sitokin/kemokin proinflamasi (IL-1, IL-6, dan TNF- α) dan MMP, tetapi juga demikian terlibat dalam penuaan dini fibroblas.¹⁹

2.2 Ekspresi PDGF

Platelet-derived growth factor (PDGF) adalah salah satu faktor pertumbuhan yang ditemukan dalam trombosit darah (platelet) serta ditemukan juga pada fibroblast, sel otot polos, dan sel glia. PDGF merangsang kemotaksis, proliferasi, dan ekspresi gen baru pada monosit-makrofag dan fibroblas in vitro yang penting dalam proses perbaikan jaringan.²¹ PDGF berperan penting sebagai faktor mitogenik, merangsang pembelahan sel pada berbagai jenis sel, termasuk yang terdapat dalam jaringan ikat dan sistem saraf yang sedang berkembang, proses penyembuhan luka, dan perbaikan jaringan dalam tubuh.^{21,22}

PDGF mendorong pembelahan sel, khususnya fibroblas, yang penting dalam pembentukan jaringan baru, menarik sel-sel ke area luka, termasuk fibroblas dan sel imun. PDGF mendukung pembentukan pembuluh darah baru di sekitar luka dan membantu dalam pengaturan produksi kolagen dan protein matriks lainnya untuk memperkuat jaringan yang baru terbentuk.

PDGF memiliki peran penting dalam pertumbuhan dan pembelahan sel, pembentukan pembuluh darah, proliferasi sel-sel mesenkimal, migrasi sel, dan respons terhadap kerusakan.²³

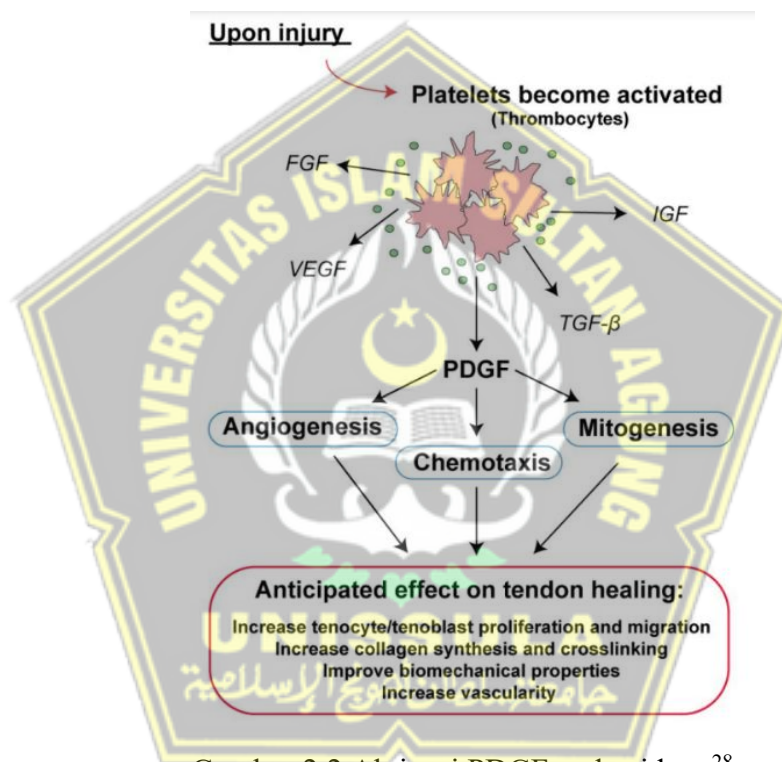
Granula alfa pada trombosit melepaskan PDGF ke area luka saat terjadi

cedera, bersamaan dengan faktor pertumbuhan lainnya seperti TGF- β , bFGF, IGF-1, dan VEGF.⁵⁰ PDGF dan TGF- β merekrut neutrofil dan monosit untuk memicu reaksi peradangan, merekrut neutrofil dan monosit dari aliran darah untuk memicu reaksi peradangan. Sementara itu, sel endotelial diaktifasi oleh VEGF, TGF- α , dan bFGF untuk memulai proses angiogenesis. Kemudian, fibroblas diaktivasi dan ditarik oleh PDGF untuk berpindah ke area luka dan memulai produksi kolagen dan glikosaminoglikan yang merupakan protein-protein dalam matriks ekstraseluler dan mendukung pergerakan sel dan interaksi dengan kerangka matriks.²⁴

Proses penyembuhan dimulai dengan hemostasis, pengendapan trombosit di area cedera, dan interaksi antara mediator-mediator yang larut dan faktor-faktor pertumbuhan dengan matriks ekstraseluler untuk menyiapkan dasar bagi peristiwa penyembuhan yang berikutnya.^{23,25}

PDGF memainkan peran kunci dalam fase inflamasi penyembuhan luka yang berlangsung 0–48 jam setelah cedera. Platelet yang teraktivasi di area luka melepaskan PDGF untuk merekrut sel imun seperti makrofag dan neutrofil guna membersihkan luka dari debris dan patogen. Pada fase proliferasi yang terjadi 2–10 hari setelah luka, PDGF merangsang fibroblas untuk bermigrasi ke area luka. Fibroblas memproduksi kolagen tipe III dan komponen matriks lainnya yang berperan dalam pembentukan jaringan granulasi. Pada fase remodeling (10 hari – beberapa bulan) PDGF membantu pengaturan sintesis dan degradasi kolagen untuk memperkuat jaringan baru, fibroblas yang distimulasi oleh PDGF memfasilitasi transisi dari kolagen tipe III menjadi kolagen tipe I yang lebih kuat.²⁶

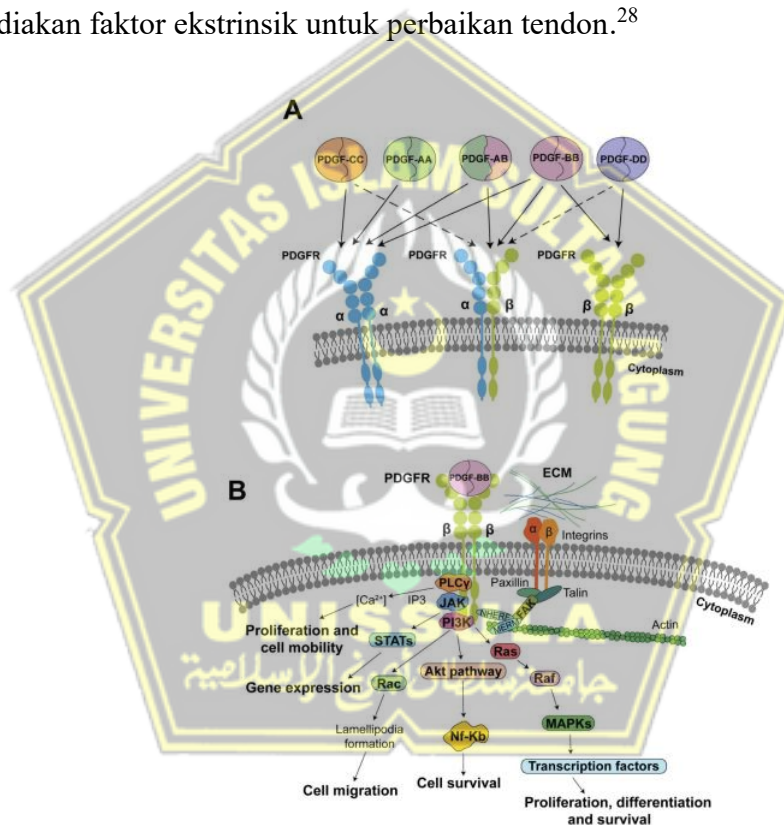
PDGF merangsang proliferasi sel-sel penting seperti fibroblas yang berperan dalam pembentukan jaringan ikat dan mempercepat proses penyembuhan.¹⁰ PDGF juga mendorong sintesis kolagen, yang merupakan komponen utama dalam pembentukan kerangka luka. PDGF membantu mengoordinasikan berbagai tahap penyembuhan luka untuk memastikan penyembuhan yang efisien setelah terjadicedera atau luka.²⁷



Gambar 2.2 Aktivasi PDGF pada cedera.²⁸

Setelah cedera akut, faktor pertumbuhan, seperti *Transforming Growth Factor-beta* (TGF-β), *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), *Fibroblast Growth Factor* (FGF), *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF) dan *Insulin-like Growth Factor* (IGF), dilepaskan dari α -granules yang disekresikan oleh trombosit di lokasi luka. PDGF meningkatkan regulasi VEGF dan ekspresi integrin yang terlibat dalam migrasi sel otot polos, sehingga mendorong angiogenesis. PDGF

memiliki efek kemotaktik dan mitogenik pada neutrofil, makrofag, dan fagosit, yang bertanggung jawab atas pemecahan dan pembersihan sisa-sisa jaringan, serta pada tenosit yang memasuki lokasi luka untuk meregenerasi jaringan yang rusak. Hasilnya, pemberian PDGF pada lokasi luka dapat memberikan efek positif terhadap deposisi kolagen dan pengikatan silang, sifat biomekanik dari penyembuhan tendon, dan juga meningkatkan vaskularisasi sementara dengan menyediakan faktor ekstrinsik untuk perbaikan tendon.²⁸



Gambar 2.3 Pensinyalan PDGF.²⁸

(A) Interaksi PDGF-PDGFR, dimana setiap unit dimer PDGF berinteraksi dengan satu subunit reseptor. Interaksi yang ditunjukkan telah ditentukan secara in vitro; interaksi yang lemah atau laporan yang bertentangan ditunjukkan dengan garis putus-putus. (B) Jalur pensinyalan setelah pengikatan PDGF-BB dan

interaksi dengan sitoskeleton dan integrin. Representasi yang disederhanakan dari pemain dan tindakan utama dimana banyak elemen dan proses lainnya, terutama mekanisme umpan balik, telah dihilangkan.²⁸

2.3 Faktor yang mempengaruhi kadar IL-1 dan ekspresi PDGF

IL-1 dan PDGF seringkali terlibat bersamaan dalam proses inflamasi dan perbaikan jaringan. IL-1 dapat secara langsung menginduksi ekspresi PDGF pada berbagai jenis sel. Peningkatan kadar IL-1 dalam lingkungan mikro dapat menyebabkan peningkatan produksi PDGF, yang selanjutnya berkontribusi pada proliferasi fibroblas, pembentukan matriks ekstraseluler, dan angiogenesis dalam respons terhadap cedera atau peradangan kronis.

Interleukin-1 (IL-1) memainkan peran krusial dalam respons imun dan terjadinya peradangan. Tingkat kadar IL-1 dalam tubuh sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor. Salah satu pemicu utama adalah adanya stimulus pro-inflamasi, yang meliputi keberadaan patogen dan produk mikroba seperti lipopolisakarida (LPS), peptidoglikan, serta DNA dan komponen virus atau bakteri lainnya. Kerusakan jaringan akibat trauma, iskemia, atau cedera akan melepaskan molekul bahaya (DAMPs) seperti *HMGB1*, protein S100, dan *ATP* ekstraseluler yang juga efektif mengaktifkan sel-sel imun dan memicu produksi IL-1. Lebih lanjut, sitokin pro-inflamasi lain seperti $\text{TNF-}\alpha$ dan IL-6 dapat memperkuat produksi IL-1 melalui mekanisme umpan balik positif.¹⁴

Produksi IL-1 juga sangat bergantung pada aktivasi reseptor pola pengenalan (PRRs) yang diekspresikan oleh sel-sel imun seperti makrofag, monosit, dan sel dendrit. Ligasi PRRs, seperti TLRs dan NLRs, oleh patogen atau DAMPs akan mengaktifkan jalur pensinyalan di dalam sel yang berujung pada transkripsi dan pelepasan IL-1. Secara khusus, NLR seperti *NLRP3* dapat membentuk kompleks inflammasom yang mengaktifkan *caspase-1*, sebuah enzim yang memproses prekursor IL-1 β menjadi bentuk aktifnya, sehingga meningkatkan kadar IL-1 yang responsif terhadap ancaman atau kerusakan.²⁹

PDGF merupakan faktor pertumbuhan esensial yang berperan dalam proliferasi dan migrasi sel, serta pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis). Ekspresi PDGF dipengaruhi oleh beragam faktor. Stimulus pro-inflamasi, termasuk sitokin seperti TNF- α dan IL-1, dapat memicu peningkatan transkripsi dan produksi PDGF oleh berbagai jenis sel seperti sel endotel, sel otot polos, fibroblas, dan sel-sel inflamasi. Faktor pertumbuhan lain seperti EGF dan FGF juga dapat menginduksi ekspresi PDGF. Cedera fisik pada jaringan dan kondisi kekurangan oksigen (hipoksia) juga merupakan pemicu pelepasan dan peningkatan ekspresi PDGF, yang berperan dalam memfasilitasi proses perbaikan jaringan dan pembentukan pembuluh darah baru. Aktivasi jalur pensinyalan intraseluler, seperti *MAPK/ERK*, *PI3K/Akt*, dan *NF- κ B*, yang diinduksi oleh stimulus pro-inflamasi dan faktor pertumbuhan lainnya, juga berkontribusi pada peningkatan transkripsi gen PDGF. Lebih lanjut, variasi genetik atau polimorfisme pada gen PDGF dan gen-gen yang mengatur ekspresinya dapat memengaruhi tingkat produksi PDGF antar individu. Terakhir, kapasitas produksi PDGF bervariasi antar jenis sel; contohnya, trombosit menyimpan PDGF dalam jumlah besar dan melepaskannya saat aktivasi, sementara sel endotel, sel otot polos vaskular, dan fibroblas juga merupakan sumber signifikan PDGF.²⁶

2.4 Tanaman Mengkudu

1. Morfologi dan Klasifikasi mengkudu

Mengkudu di Indonesia dikenal dengan beberapa nama, seperti bengkudu, cengkudu, kemudu, dan pace. Mengkudu dikenal dunia sebagai Indian Mulberry atau noni. Pada umumnya, pohon mengkudu di Indonesia memiliki tinggi 3–8 meter dengan diameter batangnya 40.5–90 cm, bentuknya kasar dan bercabang. Secara umum, bentuk tanaman mengkudu dapat berupa elipsoid, kerucut, bulat, silinder, dan ireguler.³⁰

Daun mengkudu memiliki panjang berkisar antara 22.8 – 27.4 cm dan

lebarnya di antara 12 –14.9 cm dengan urat daun menyirip. Daun mengkudu letaknya berhadapan, bentuknya bervariasi, tepi daun bergelombang, ujung daun lancip, pangkal daun berbentuk pasak, dan warnanya hijau mengilap. Sedangkan bunga mengkudu bentuknya seperti bonggol, biasanya tumbuh di ketiak daun penumpu (stipula). Bonggol bunga kemudian berkembang menjadi buah dengan ukuran yang beragam, dengan panjang berkisar antara 9,2 hingga 11,5 cm dan lebar sekitar 5,1 hingga 5,7 cm. Buah ini mengandung biji-biji di dalamnya dan memiliki ciri khas pada permukaannya, yaitu bersekat dan berbintik.³⁰

Berikut adalah klasifikasi mengkudu dari tingkat kingdom sampai spesies.

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Filum	: <i>Spermatophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: <i>Asteridae</i>
Ordo / bangsa	: <i>Rubiales</i>
Famili / suku	: <i>Rubiaceae</i>
Genus / Marga	: <i>Morinda</i>
Spesies / jenis	: <i>Morinda citrifolia</i> L.

2. Kandungan Buah Mengkudu

Buah mengkudu memiliki beragam kandungan nutrisi dan senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan, senyawa fitokimia yang terkandung seperti total fenol, alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, triterpenes, dan coumarins.³¹

a) Total Fenol

Fenol merupakan kelompok senyawa kimia yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil (-OH) yang terikat langsung pada cincin

aromatik (benzena). Senyawa ini termasuk dalam kelas senyawa bioaktif yang banyak ditemukan dalam tumbuhan, termasuk buah mengkudu (*Morinda citrifolia*), dalam bentuk senyawa fenolik (phenolic compounds). Beberapa jenis senyawa fenolik yang umum dijumpai pada tanaman antara lain asam galat, asam kafeat, flavonoid seperti *quercetin* dan *kaempferol*, serta tanin dan *lignin*.³²

Senyawa fenol berperan penting melalui berbagai mekanisme. Sebagai antioksidan, fenol mampu menetralkan radikal bebas (ROS) yang dapat merusak sel fibroblas dan keratinosit, melindungi jaringan dari stres oksidatif. Fenol juga memiliki aktivitas antiinflamasi dengan cara menurunkan ekspresi sitokin proinflamasi melalui penghambatan jalur pensinyalan *NF-κB*. Aktivitas ini berperan dalam mengontrol fase inflamasi dan mempercepat proses regenerasi jaringan. Fenol juga memiliki efek antibakteri yang membantu mencegah infeksi pada luka terbuka dengan merusak struktur membran sel bakteri. Kombinasi ketiga fungsi ini menjadikan senyawa fenolik sebagai komponen potensial dalam terapi topikal untuk mempercepat penyembuhan luka. Kandungan senyawa fenolik dalam buah mengkudu tergolong tinggi dan berpotensi mendukung proses penyembuhan luka.³³

Hasil analisis menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah mengkudu mengandung sekitar 14,4 mg GAE/g (gallic acid equivalent per gram ekstrak). Data lain mencatat kandungan fenol sebesar 35,6 mg GAE per 100 g buah segar. Senyawa fenolik berperan yang paling dominan

sebagai agen antiinflamasi. Aktivitas ini sangat krusial pada fase awal penyembuhan, di mana senyawa fenolik menekan ekspresi sitokin proinflamasi mengendalikan respon inflamasi, fenol membantu mempercepat transisi ke fase proliferasi. Efek antioksidan dan antibakterinya turut mendukung dengan melindungi sel dari stres oksidatif dan mencegah infeksi, namun keduanya lebih bersifat komplementer dibandingkan peran utamanya sebagai pengatur inflamasi.⁸

b) Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa alami yang bersifat basa dan mengandung satu atau lebih atom nitrogen⁶¹. Alkaloid dapat diklasifikasikan menurut prekursor molekuler, struktur, atau jalur metabolisme dalam pembentukan molekulnya, yaitu alkaloid sejati dan protoalkaloid yang dihasilkan dari asam amino, serta pseudoalkaloid yang tidak berasal dari asamamino.

Buah mengkudu mengandung alkaloid, terutama *xeronine*, yang memiliki efek imunomodulator dan antiinflamasi. Meskipun kadar pastinya belum banyak dilaporkan, ekstrak mengkudu mengandung sekitar 1–4 mg alkaloid ekuivalen quinine per gram. Alkaloid berperan menurunkan kadar sitokin proinflamasi, sehingga meredam inflamasi dan mempercepat fase proliferasi. Ekstrak ini juga mendukung peningkatan growth factor, yang penting untuk aktivasi fibroblas dan pembentukan jaringan baru. Kombinasi efek ini

membantu mempercepat proses penyembuhan luka.³⁴

Kandungan alkaloid dapat diketahui dengan menggunakan Uji Mayer yang ditandai dengan adanya endapan putih, Uji Wagner yang ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda-kuning, dan Uji Dragendorff yang ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda-oranye. Alkaloid berperan sebagai antimikroba yang memiliki aktivitas penyembuhan luka dengan mengurangi periode epitelisasi.³⁵

c) Flavonoid

Flavonoid adalah hasil metabolit sekunder polifenol yang memiliki sifat anti-oksidatif, anti-inflamasi, anti-mutagenik, anti-karsinogenik dan dapat memodulasi fungsi enzim seluler utama.³⁶ Struktur flavonoid terdiri dari dua cincin aromatik C₆ yang terhubung oleh sebuah cincin benzena unit C₃. Penempatan cincin katekol pada cincin benzena merupakan faktor yang membedakan flavonoid (2-*fenilkromana*) dengan isoflavonoid (3-*fenilkromana*).³⁷

Flavonoid dalam buah mengkudu memiliki beberapa mekanisme molekuler penting. Flavonoid menghambat enzim patogen seperti *lipase*, *protease*, dan β -*glukosidase*, yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Flavonoid meningkatkan permeabilitas membran sel mikroba, menyebabkan kerusakan dan kematian sel mikroba, serta mencegah infeksi. Flavonoid juga memiliki efek antiinflamasi dengan menghambat COX-2, mengurangi produksi prostaglandin, dan mengurangi peradangan. Selain itu, flavonoid

menghambat produksi sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6, dan TNF- α , yang membantu meredakan peradangan dan melindungi jaringan sehat.³⁸

Flavonoid lebih dominan berperan sebagai antiinflamasi pada luka, dengan menekan jalur pensinyalan inflamasi seperti NF- κ B dan COX-2, serta menurunkan kadar IL-1 β , TNF- α , dan IL-6 yang meningkat pada fase awal luka. Efek ini penting untuk mempercepat transisi ke fase proliferasi. Sementara, peran antioksidan flavonoid lebih bersifat protektif dan menunjang, bukan pengatur utama proses penyembuhan.³⁸

d) Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida yang terbentuk dari triterpen dan steroid. Saponin memiliki kemampuan menghasilkan busa seperti sabun dan bersifat amfifilik yang berasal dari struktur yang mengandung aglikon yang berasal dari *isoprenoid-derived aglycone* (sapogenin) yang terikat pada satu atau lebih rantai gula melalui ikatan eter atau ester.³⁹ Saponin dibagi menjadi dua kelompok utama, yaitu saponin triterpenoid dan saponin steroid. Berdasarkan aktivitas biologisnya, saponin memiliki aktivitas sebagai imunostimulan, antioksidan, antimikroba antiinflamasi, dan dapat memengaruhi pertumbuhan, serta permeabilisasi membran.^{40,41}

Saponin dalam buah mengkudu memiliki mekanisme molekuler yang mendukung efek antimikroba dan antiinflamasi.

Pertama, saponin dapat merusak membran sel mikroba dengan meningkatkan permeabilitasnya, yang menyebabkan kematian patogen dan menghentikan infeksi. Selain itu, saponin menghambat jalur NF- κ B, yang mengurangi produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1, dan IL-6, sehingga mengurangi peradangan dan mencegah kerusakan jaringan. Saponin juga menghambat proliferasi mikroba dengan mengganggu proses metabolik mereka, seperti sintesis protein dan asam nukleat. Selain itu, saponin memodulasi sistem kekebalan tubuh dengan meningkatkan aktivitas sel imun, seperti makrofag dan sel T, untuk lebih efektif melawan patogen. Bersama dengan flavonoid, saponin bekerja sinergis dalam mempercepat penyembuhan luka dan mengurangi komplikasi infeksi.^{41,42}

Buah mengkudu diketahui mengandung senyawa saponin dalam kadar yang cukup tinggi, tergantung pada bentuk dan metode ekstraksinya. Pada sediaan bubuk buah mengkudu, kandungan saponin tercatat berkisar antara 21,9 hingga 37,1 mg AE/g (oleanolic acid equivalent per gram). Hasil ekstraksi dengan etanol pada suhu 80 °C selama 3 jam dapat menghasilkan saponin hingga 227,25 mg/g ekstrak kering, setara dengan 22,7% dari berat ekstrak. Saponin berperan penting terutama sebagai agen antimikroba dalam proses penyembuhan luka. Efek dominan ini berasal dari sifat surfaktan alaminya yang mampu merusak membran sel mikroba, sehingga menjaga luka tetap steril dan bebas infeksi—faktor krusial dalam mencegah gangguan

pada fase penyembuhan. Flavonoid dan saponin dalam buah mengkudu berkontribusi signifikan terhadap aktivitas antimikroba sehingga menjadi bahan alam yang potensial untuk terapi infeksi akut.^{38,42}

e) Tannin

Tannin merupakan senyawa polifenol yang dapat membentuk kompleks dengan polisakarida serta dapat mengendapkan protein. Tannin memiliki berat molekul antara 500 dan 3000 yang dapat larut dalam air dan mengendapkan alkaloid, gelatin, dan protein lainnya. Tannin memiliki peran sebagai zat penyusut yang mampu menghentikan keluarnya cairan dan perdarahan ringan, sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka.

Buah mengkudu mengandung senyawa tanin dalam jumlah yang cukup, dengan kadar sekitar 0,22% pada daging buah dan 0,27% pada bijinya berdasarkan berat kering. Tannin termasuk dalam kelompok senyawa fenolik yang dikenal memiliki berbagai aktivitas biologis, seperti antiinflamasi, antibakteri, dan antioksidan. Namun, dalam konteks penyembuhan luka, fungsi paling dominan tanin adalah sebagai antioksidan. Aktivitas ini berperan penting dalam menetralkan radikal bebas (ROS) yang terbentuk di area luka, sehingga melindungi sel fibroblas dan keratinosit dari kerusakan oksidatif. Perlindungan ini mendukung kelangsungan fase proliferasi dan remodeling jaringan, serta mempercepat pemulihan struktur kulit yang rusak akibat luka iris.⁴³

2.5 Luka iris

Luka didefinisikan sebagai gangguan pada struktur anatomi, yang biasanya merusak epidermis kulit. Luka dapat diklasifikasikan berdasarkan jenis cedera atau faktor pemicu, waktu, dan kedalamannya. Berdasarkan jenis cederanya, luka dapat dikelompokkan menjadi luka bersih, luka terkontaminasi, luka destruktif, luka potong, dan luka bakar.⁴⁴ Berdasarkan waktu penyembuhannya, luka dibagi menjadi dua, yaitu luka akut yang dapat secara alami sembuh dengan sendirinya, dan luka kronis yang biasanya membutuhkan perawatan khusus.⁴⁵ Luka berdasarkan kedalamannya dibagi menjadi dua, yaitu *partial-thickness* yang hanya melibatkan lapisan epidermis kulit atau menembus sebagian dermis dan *full-thickness* yang menembus kulit ke jaringan di bawahnya seperti jaringan adiposa, otot, tendon, atau tulang.⁴⁶

Salah satu jenis luka adalah luka iris yang mengalami kerusakan jaringan yang cukup luas, dibanding dengan luka gesekan yang hanya melukai bagian permukaan epidermis. Luka iris merujuk pada luka yang terjadi ketika jaringan dipotong oleh benda tajam menembus area dermis.⁴⁶ Benda tajam seperti kaca, silet, dan pisau, dapat menimbulkan luka iris yang berbentuk garis dengan ciri permukaan luka tampak teratur, sudut luka tajam, tidak ada jembatan jaringan, tidak terdapat memar pada areasekitar luka, dan kedalaman luka lebih kecil dibanding panjang luka. Tipe-tipe luka iris yang paling umum adalah sayatan garis tengah dan sayatan melintang.⁴⁶

Proses fisiologi penyembuhan luka adalah suatu proses yang rumit dan dinamis yang bertujuan untuk mengganti dan mengembalikan struktur serta fungsi jaringan luka agar kembali seperti semula; proses penyembuhan melalui

empat fase, yaitu fase hemostasis, fase inflamasi, fase prolifерatif dan fase remodeling.⁴⁷

1. Fase Hemostasis

Fase pertama dari hemostasis dimulai segera setelah terjadinya luka, dengan penyempitan pembuluh darah dan pembentukan bekuan fibrin. Bekuan jaringan luka di sekitarnya melepaskan sitokin pro-inflamasi dan faktor pertumbuhan seperti *transforming growth factor* (TGF)- β , *platelet-derived growth factor* (PDGF), *fibroblast growth factor* (FGF), dan *epidermal growth factor* (EGF). Setelah perdarahan terkontrol, sel-sel inflamasi bermigrasi ke dalam luka (kemotaksis) dan mempromosikan fase inflamasi, yang ditandai dengan infiltrasi berurutan dari neutrofil, makrofag, dan limfosit. Peran penting dari neutrofil adalah untuk menghilangkan mikroorganisme dan sisa-sisa sel yang masuk ke dalam area luka. Neutrofil juga menghasilkan senyawa seperti *protease* dan *reactive oxygen species* (ROS) yang dapat menyebabkan kerusakan tambahan pada jaringan di sekitarnya.⁴⁷

2. Fase Inflamasi

Fase selanjutnya dari penyembuhan luka, yaitu inflamasi, terjadi dalam 24 jam pertama setelah cedera dan dapat berlangsung hingga 2 minggu pada luka normal, dan jauh lebih lama pada luka kronis yang sulit sembuh. Sel-sel mastosit melepaskan granula yang berisi enzim, histamin, dan amina aktif lainnya, yang bertanggung jawab atas tanda-tanda khas peradangan, seperti kemerahan, panas, pembengkakan, dan Nyeri di sekitar

lokasi luka. Neutrofil, monosit, dan makrofag merupakan sel-sel kunci selama fase inflamasi.⁴⁸ Membersihkan luka dari infeksi dan sisa-sisa sel yang rusak, serta melepaskan mediator mediator larut seperti sitokin proinflamasi (termasuk IL-1, IL-6, IL- 8, dan TNF- α) serta faktor pertumbuhan (seperti PDGF, TGF- β , TGF- α , IGF- 1, dan FGF) yang terlibat dalam rekrutmen dan aktivasi fibroblas dan sel epitelial sebagai persiapan untuk fase penyembuhan selanjutnya.⁴⁹

3. Fase Proliferasi

Tahapan-tahapan penting dalam fase proliferasi meliputi penggantian matriks fibrin provisional dengan matriks baru yang terdiri dari serat kolagen, proteoglikan, dan fibronectin untuk mengembalikan struktur dan fungsi jaringan.⁴⁸ Kejadian penting lainnya dalam proses penyembuhan adalah angiogenesis, yaitu pertumbuhan pembuluh darah baru untuk menggantikan pembuluh yang sebelumnya rusak dan mengembalikan sirkulasi darah. Peristiwa penting lainnya dalam fase penyembuhan ini adalah pembentukan jaringan granulasi dan epitelialisasi. Fibroblas adalah sel-sel kunci dalam fase proliferasi penyembuhan.¹⁷

4. Fase *remodelling*

Remodeling adalah fase terakhir dari proses penyembuhan. Selama fase ini, permukaan luka mengalami kontraksi. Fenomena utama dari kontraksi luka adalah diferensiasi fenotipik fibroblas yang sudah ada menjadi miofibroblas. Miofibroblas mengandung serat-serat mikrofilamen aktin *alpha smooth muscleactin* (α -sma), memberikan sel-sel tersebut sifat

kontraksi. Selanjutnya, reseptor integrin $\alpha 1\beta 1$ dan $\alpha 2\beta 1$ berinteraksi dengan tempat-tempat khusus pada kolagen dan berperan dalam kontraksi jaringan granulasi yang terjadi pada minggu kedua penyembuhan, sehingga miofibroblas menjadi populasi sel yang paling banyak jumlahnya dalam jaringan granulasi.¹⁰

Berdasarkan uraian di atas, pada fase hemostasis terjadi penyempitan pembuluh darah, agregasi platelet, degranulasi, dan pembentukan fibrin. Pada fase inflamasi, terjadi infiltrasi neutrofil, infiltrasi monosit dan berdiferensiasi menjadi makrofag, dan infiltrasi limfosit. Pada fase proliferasi, terjadi re-epitelisasi, angiogenesis, sintesis kolagen, dan pembentukan matriks ekstraseluler. Pada fase remodelling, terjadi remodelling kolagen, maturasi dan regresi vaskuler.¹⁰

2.6 Hubungan kadar IL-1 dan ekspresi PDGF terhadap penyembuhan luka iris

Pasca terjadinya luka iris, serangkaian peristiwa kompleks teraktivasi untuk memulai proses penyembuhan. Pada fase inflamasi awal, yang berlangsung beberapa jam hingga beberapa hari setelah cedera, terjadi peningkatan signifikan pada kadar *Interleukin-1* (IL-1) dan ekspresi *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF) di area luka. Peningkatan kadar IL-1 dipicu oleh kerusakan sel-sel jaringan seperti keratinosit, fibroblas, dan sel endotel yang melepaskan *Damage-Associated Molecular Patterns* (DAMPs) seperti *HMGB1* dan *ATP* ekstraseluler. DAMPs ini kemudian mengaktifkan sel-sel

imun bawaan seperti makrofag dan sel mast melalui reseptor pola pengenalan (PRRs) seperti *Toll-like receptors* (TLRs), terutama TLR4, serta mengaktivasi inflammasom seperti NLRP3, yang selanjutnya memicu produksi dan pelepasan IL-1 β . Secara molekuler, IL-1 berperan penting dalam merekrut sel-sel inflamasi lainnya (neutrofil, monosit) ke lokasi luka melalui peningkatan ekspresi molekul adhesi pada sel endotel dan produksi kemokin, serta memperkuat respons inflamasi awal dengan meningkatkan produksi sitokin pro-inflamasi lainnya seperti TNF- α dan IL-6. Bersamaan dengan itu, ekspresi PDGF juga meningkat. Aktivasi trombosit saat pembentukan sumbatan hemostatik melepaskan PDGF dari granula alfa mereka. Sel-sel jaringan yang rusak dan teraktivasi di sekitar luka juga mulai memproduksi PDGF sebagai respons terhadap sitokin pro-inflamasi (termasuk IL-1 dan TNF- α) dan faktor pertumbuhan lainnya. PDGF memainkan peran krusial dalam fase proliferasi penyembuhan luka dengan menstimulasi migrasi dan proliferasi fibroblas untuk pembentukan matriks ekstraseluler dan jaringan granulasi, serta berperan dalam angiogenesis dan kontraksi luka.^{2,9}

Krim ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) menunjukkan potensi signifikan dalam memengaruhi proses penyembuhan luka berkat kandungan beragam senyawa bioaktifnya, termasuk flavonoid, iridoid (seperti *asperuloside* dan *aucubin*), serta polisakarida. Penggunaan topikal krim ini dapat memodulasi kadar IL-1 dan ekspresi PDGF melalui beberapa mekanisme. Pertama, ekstrak mengkudu memiliki potensi efek anti-inflamasi. Senyawa flavonoid dan iridoid di dalamnya terbukti aktif menghambat jalur pensinyalan pro-inflamasi seperti

NF-κB dan *MAPK*. Penghambatan jalur *NF-κB* secara khusus dapat mengurangi transkripsi gen *IL-1β* pada sel-sel imun dan jaringan yang aktif di area luka, yang berujung pada penurunan kadar *IL-1*.⁵⁰ Secara molekuler, flavonoid dalam mengkudu dapat menghambat aktivasi *IκB kinase (IKK)*, sebuah langkah krusial dalam aktivasi *NF-κB*, sehingga menurunkan produksi mRNA dan protein *IL-1β*. Kedua, pengaruh ekstrak mengkudu terhadap ekspresi PDGF kemungkinan lebih kompleks dan bergantung pada konsentrasi serta fase penyembuhan luka. Pada fase proliferasi, beberapa penelitian mengindikasikan bahwa mengkudu dapat meningkatkan proliferasi fibroblas dan produksi kolagen, yang secara tidak langsung terkait dengan regulasi PDGF melalui stimulasi jalur pensinyalan seperti *PI3K/Akt* atau *ERK1/2* oleh polisakarida dalam mengkudu. Pada fase inflamasi lanjut, efek anti-inflamasi mengkudu yang menekan *IL-1* dan sitokin pro-inflamasi lainnya dapat membantu menormalkan ekspresi PDGF, mencegah produksi berlebihan yang berpotensi menyebabkan fibrosis. Kandungan antioksidan yang tinggi dalam ekstrak mengkudu dapat membantu mengurangi stres oksidatif di luka, yang sering memperburuk peradangan dan menghambat penyembuhan, sehingga secara tidak langsung memengaruhi regulasi sitokin dan faktor pertumbuhan.^{12,51,52}

BAB III

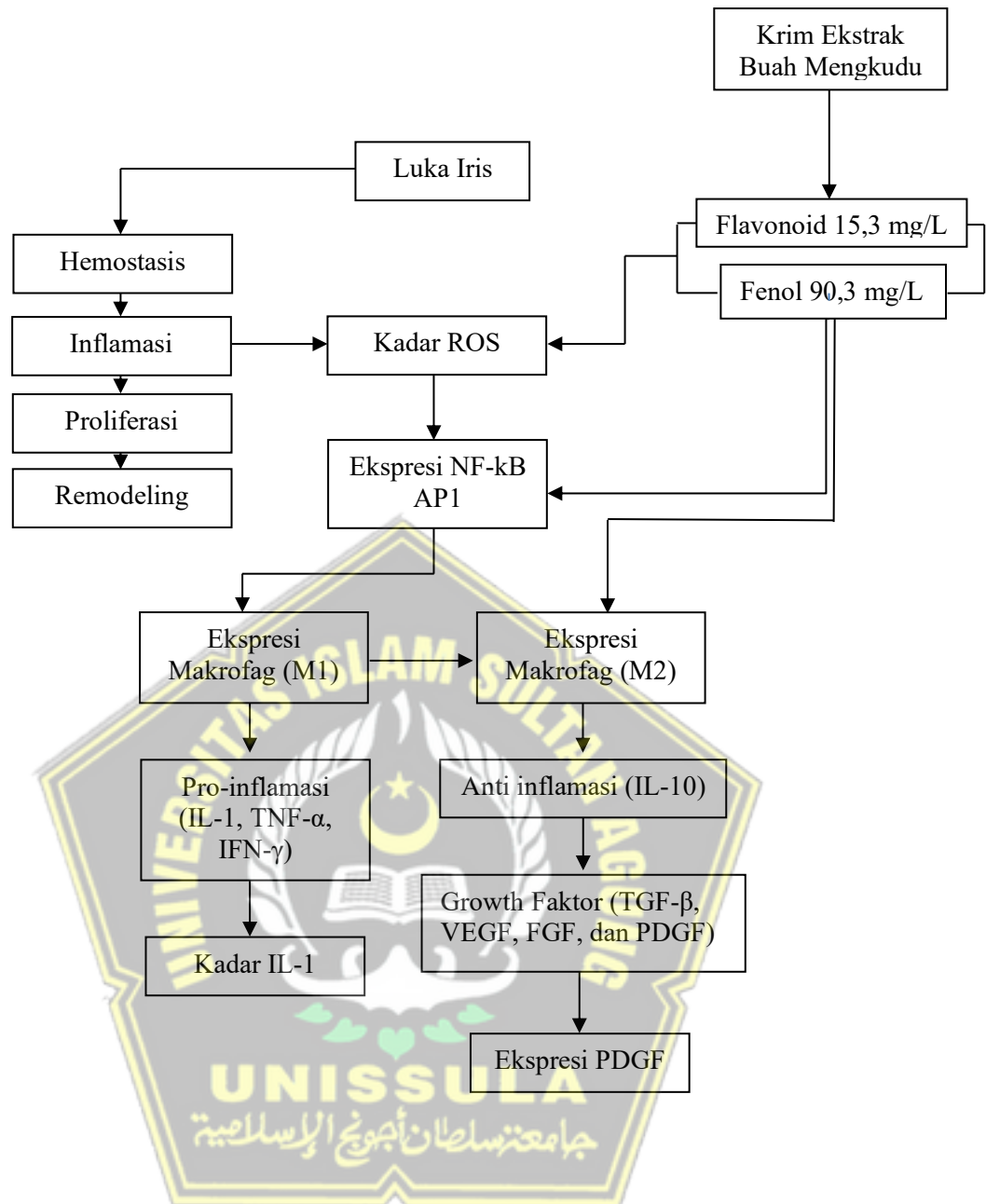
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori

Luka iris merupakan luka sayatan yang mencapai lapisan epidermis hingga dermis dan memicu respon biologis kompleks melalui beberapa fase. Pada fase hemostasis, terjadi vasokonstriksi dan pembentukan bekuan darah dengan aktivasi trombosit dan pelepasan faktor pertumbuhan seperti PDGF. Fase inflamasi kemudian dimulai dengan aktivasi sel imun, seperti neutrofil dan makrofag, yang melepaskan sitokin proinflamasi IL-1 untuk meningkatkan permeabilitas pembuluh darah dan memicu inflamasi lokal. Selanjutnya, fase proliferasi ditandai dengan peran PDGF dalam merekrut fibroblas, merangsang sintesis kolagen, dan mempercepat proses re-epitelisasi kulit.

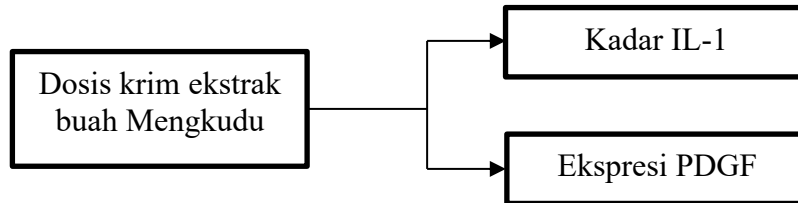
Ekstrak buah mengkudu mempercepat penyembuhan luka melalui mekanisme pada fase inflamasi, senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, dan asam askorbat dalam ekstrak mengkudu menghambat jalur *NF-κB*, sehingga menurunkan ekspresi sitokin proinflamasi IL-1 dan mengurangi respon inflamasi berlebihan. Pada fase proliferasi, ekstrak buah mengkudu meningkatkan ekspresi PDGF melalui aktivasi jalur *PI3K/Akt* dan efek antioksidan yang menurunkan stres oksidatif. Kombinasi mekanisme ini membantu mempercepat regenerasi jaringan, meningkatkan sintesis kolagen, dan menciptakan kondisi yang optimal untuk penyembuhan luka.

Antioksidan dalam ekstrak buah mengkudu berperan sebagai *scavenger* radikal bebas dengan menyumbangkan elektron untuk menetralkan *Reactive Oxygen Species* (ROS), seperti superoksida (O_2^-) dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Mekanisme ini tidak hanya melindungi sel kulit dari kerusakan oksidatif tetapi juga menjaga kesehatan sel fibroblas yang berperan penting dalam penyembuhan luka. Sel fibroblas yang sehat mampu meningkatkan ekspresi *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF) secara optimal, yang mendukung proses proliferasi dan regenerasi jaringan. Selain itu, antioksidan dalam mengkudu juga menghambat aktivasi jalur *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK) yang biasanya dipicu oleh ROS. Jalur MAPK ini dikenal dapat meningkatkan produksi sitokin proinflamasi, sehingga dengan menekannya, ekstrak mengkudu menciptakan kondisi yang lebih kondusif bagi PDGF untuk mempromosikan pembentukan jaringan baru dan mempercepat penyembuhan luka.



Gambar 3.1 Kerangka Teori

3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep

3.3 Hipotesis Penelitian

Terdapat pengaruh pemberian krim ekstrak buah mengkudu terhadap kadar IL-1 dan ekspresi PDGF pada jaringan kulit tikus *Wistar* model luka iris.



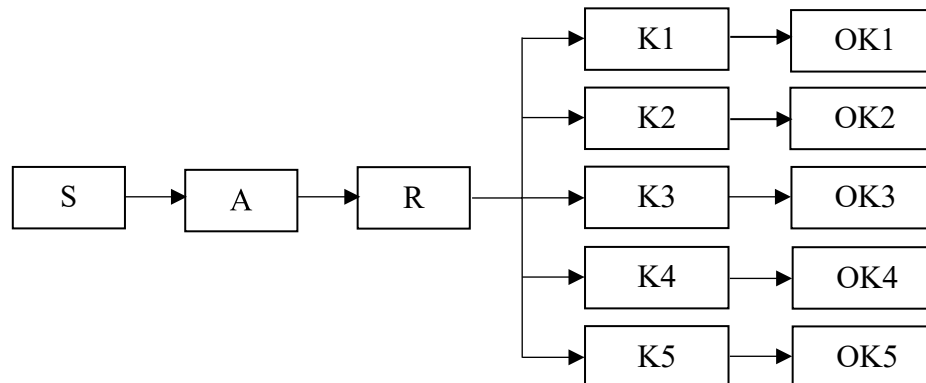
BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis penelitian dan rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimen dengan *post test-only control group design* yang mengevaluasi perbedaan pada kelompok kontrol dan perlakuan. Pada desain ini, ditentukan lima kelompok yaitu kelompok tikus sehat (K1), kelompok kontrol negatif (K2) diberi perlakuan model luka iris dan diberi basic cream, kelompok kontrol positif (K3) diberi perlakuan model luka iris dan diberi salep *povidone iodine*, Perlakuan 1 (K4) perlakuan model luka iris dan diberikan secara topikal krim ekstrak buah mengkudu 15%, dan perlakuan 2 (P2) diberikan secara topikal krim ekstrak buah mengkudu 30%.

Desain penelitian ini dipilih untuk meminimalkan pengaruh variabel luar yang tidak diinginkan dan memastikan bahwa perbedaan hasil antara kelompok kontrol dan perlakuan disebabkan oleh perlakuan yang diberikan, pengobatan standar pada kelompok kontrol dan ekstrak mengkudu pada kelompok perlakuan. Setelah dilakukan perlakuan pada kedua kelompok, dilakukan pengukuran pada kadar IL-1 dan ekspresi PDGF pada jaringan kulit tikus wistar model luka iris untuk dianalisis lebih lanjut.



Gambar 4.1 Alur Rancangan Penelitian

Keterangan:

S : Sampel

A : Adaptasi

R : Randomisasi

K1 : Kelompok tikus sehat

K2 : Kelompok kontrol negatif (*basic cream*)

K3 : Kelompok kontrol positif (*salep povidone iodine*)

K4 : Perlakuan 1 (krim ekstrak buah mengkudu 15%)

K5 : Perlakuan 2 (krim ekstrak buah mengkudu 30%)

OK1 : Observasi kelompok tikus sehat

OK2 : Observasi kontrol negatif

OK3 : Observasi kontrol positif

OK4 : Observasi perlakuan 1

OK5 : Observasi perlakuan 2

4.2 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

Variabel penelitian dan definisi operasional yang terdapat pada penelitian ini sebagai berikut:

4.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah krim ekstrak buah mengkudu (*Morinda Citrifolia* L).

4.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah kadar IL-1 dan ekspresi PDGF.

4.2.3 Definisi Operasional

a. Krim ekstrak buah mengkudu

Ekstrak buah mengkudu yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari tanaman warga didaerah Kedung Mundu Kota Semarang, Kemudian dilakukan proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dengan tahap pembuatan simplisia, maserasi dan evaporasi, dibuat di laboratorium *Integrated biomedical laboratories* Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung oleh laboran bagian kimia. Ekstrak buah mengkudu dibuat sediaan krim dengan komposisi basic krim terdiri dari (*Asam stearate, Trietanolamin, Glycerine, Potasium hidroksida, aquadest*) dan ditambahkan ekstrak buah mengkudu konsentrasi 15% dan 30%. Krim dioleskan secara topikal 1 kali sehari pada bagian luka iris sebanyak 0,2 gram selama 7 hari.

Skala : Nominal

b. Kadar IL-1

Kadar IL-1 adalah banyaknya IL-1 pada sampel jaringan kulit tikus setelah perlakuan luka iris dan diberikan krim ekstrak buah mengkudu selama 7 hari yang dinyatakan dalam satuan pg/mL. Pada hari ke 8 jaringan kulit diambil untuk dianalisis kadar IL-1 menggunakan metode ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) menggunakan reagen *Mouse IL-1*

ELISA kit merk *Thermo Fisher Scientific* oleh analis di laboratorium *Integrated biomedical laboratories* Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung

Skala : Rasio.

c. Ekspresi PDGF

Ekspresi gen PDGF merupakan jumlah ekspresi relatif gen PDGF pada jaringan kulit tikus wistar setelah perlakuan krim ekstrak buah mengkudu pada luka iris selama 7 hari, Pada hari ke 8 jaringan kulit diambil untuk dianalisis menggunakan metode RTq-PCR (*Real-Time Quantitative Reverse Transcription Polymerase chain reaction test*) pada jaringan kulit tikus putih galur wistar setelah perlakuan krim ekstrak buah mengkudu pada luka iris selama 7 hari.

Skala : Rasio.

4.3 Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian

4.3.1 Subyek Penelitian

Subyek penelitian menggunakan tikus Wistar sebanyak 30 ekor sesuai ketentuan *federer*.

4.3.2 Sampel Penelitian

a. Kriteria Inklusi

1. Tikus jantan berusia 2-3 bulan
2. Berat badan antara 200-220 gram
3. Luka iris dengan lebar 1cm kedalaman maksimal 2 mm

4. Tidak ada anomali secara makroskopis.

b. Kriteria *Drop Out*

Kriteria droup out adalah tikus yang sakit dan mati pada saat penelitian.

4.4 Teknik Pengambilan Sampel Penelitian

Sampel penelitian dibagi dengan teknik *simple random sampling*, Berikut langkah-langkah penentuan sampel dengan teknik *simple random sampling*:

1. Tikus sebagai sampel penelitian dengan model luka iris pada kulit
2. Jumlah sampel ditentukan dengan total sebesar 30 ekor
3. Subjek dibagi 5 kelompok yang terdiri atas 5+1 cadangan tikus dalam 1 kandang box
4. Tikus pada tiap kelompok box diberi nomor 1-6 sesuai kelompok perlakuan.

4.5 Besar sampel

Besar sampel ditentukan berdasarkan rumus *Federer* sebagai berikut.

$$\begin{aligned}
 (n-1)(t-1) &\geq 15 \\
 (n-1)(5-1) &\geq 15 \\
 (n-1)(4) &\geq 15 \\
 4n-4 &\geq 15+4 \\
 4n &\geq 19 \\
 n &\geq 19/4 \\
 n &\geq 4,75 \\
 n &\geq \approx 5
 \end{aligned}$$

Keterangan:

t = jumlah kelompok

n = besar sampel dalam setiap kelompok
 Jumlah sampel pada setiap kelompok adalah 5 ekor. Dengan demikian, jumlah sampel minimal yang diperlukan adalah 25 ekor tikus, ditambah cadangan untuk menghindari tikus sakit atau mati, sehingga total sampel menjadi 30 ekor tikus.

4.6 Alat dan Bahan

Berikut adalah beberapa alat yang dapat digunakan dalam penelitian pengaruh ekstrak buah mengkudu terhadap kadar IL-1 dan ekspresi PDGF pada jaringan kulit tikus wistar model luka iris antar lain seperti oven, Inkubator, Mikroskop, Timbangan analitik, Blender, Gelas kimia, Cawan petri, Kain pembersih, Rodamobilkainkal, Alkohol 70%, Gunting bedah, Jarum dan benang bedah, Pembalut luka, Mikropipet, *Centrifuge*, Spektrofotometer UV-Vis.

Alat untuk ekstraksi RNA dan PCR, seperti Trizol, RNase inhibitor, cDNA synthesis kit, PCR primer, dan enzim Taq polymerase.
 Sedangkan bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini antara lain:

1. Tikus putih galur wistar dewasa
2. Ekstrak buah mengkudu
3. Bahan kimia untuk membuat buffer dan medium kultur sel, larutan bufferfosfat (PBS)
4. Larutan formalin
5. Larutan xylazine dan ketamine

4.7 Cara Penelitian

Penelitian pengaruh ekstrak buah mengkudu terhadap kadar IL-1 dan ekspresi PDGF dapat dilakukan dengan metode eksperimental laboratorium. Berikut adalah langkah-langkah penelitian yang dapat dilakukan:

4.7.1 Perizinan Ethical Clearance

Penelitian akan dilakukan setelah setelah mendapat persetujuan dengan terlebih dahulu melakukan pengajuan *ethical clearance* agar sesuai dengan prinsip-prinsip bioetika kepada Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

4.7.2 Persiapan sampel

Tikus putih galur wistar sebanyak 30 ekor disiapkan di Laboratorium IBL Kedokteran FK UNISSULA. Pada kelompok perlakuan, area luka iris pada tikus diberikan krim ekstrak buah mengkudu, sedangkan pada kelompok kontrol tidak diberikan perlakuan/pengobatan standar. Kemudian tikus diaklimatisasi selama 7 hari di lingkungan yang telah disiapkan, dan diberikan pakan dan air secara *ad libitum*.

4.7.3 Pembuatan ekstrak buah mengkudu

Prosedur pembuatan ekstrak buah mengkudu dimulai dengan:

1. Memilih buah mengkudu yang segar dan setengah matang (buah bewarna hijau kekuning kuning) sebanyak 2 kg, kemudian mencucinya hingga bersih untuk menghilangkan kotoran.
2. Buah mengkudu kemudian dipotong tipis dan dikeringkan dalam oven

pada suhu sekitar 50°C hingga mencapai kondisi kering sempurna.

3. Buah kering dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk (simplicia) yang kemudian disimpan dalam wadah tertutup rapat di tempat kering.
4. Proses ekstraksi dilakukan dengan merendam simplicia dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:10 (simplicia:pelarut) melalui metode maserasi selama 2-3 hari di tempat gelap, sambil diaduk sesekali.
5. Setelah maserasi, larutan ekstrak disaring menggunakan kain atau kertas saring untuk memisahkan ampas, dan penyaringan dapat diulang untuk mendapatkan filtrat yang lebih jernih.
6. Pelarut kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu sekitar 40-50°C hingga diperoleh ekstrak kental.
7. Proses dilanjutkan dengan menggunakan *freeze dryer*, ekstrak yang telah jadi disimpan dalam botol kaca gelap atau wadah tertutup rapat, dan diletakkan di tempat sejuk serta terhindar dari cahaya langsung untuk menjaga stabilitasnya.

4.7.4 Pembuatan krim ekstrak buah mengkudu

Prosedur pembuatan krim ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi 15% dan 30% dimulai dengan menyiapkan bahan-bahan, yaitu ekstrak buah mengkudu, asam stearat (15 g), trietanolamin (2 g), gliserin (5 g), kalium hidroksida (0,5 g), dan akuades hingga mencapai total 100 g.

1. Pembuatan basis krim dimulai dengan persiapan fase minyak, yaitu memanaskan asam stearat pada suhu 70°C hingga meleleh sempurna. Pada fase air, kalium hidroksida dilarutkan dalam sebagian akuades, kemudian ditambahkan gliserin dan trietanolamin, lalu dipanaskan hingga suhu 70°C .
2. Fase minyak dan fase air kemudian dicampurkan secara perlahan sambil terus diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga membentuk krim dasar homogen dengan suhu turun hingga sekitar 40°C .
3. Ekstrak buah mengkudu ditimbang sesuai konsentrasi yang diinginkan, yaitu 3 g untuk krim 15% dan 6 g untuk krim 30%. Ekstrak kemudian ditambahkan ke dalam krim dasar yang sudah dingin, lalu diaduk perlahan hingga terdispersi merata.
4. Krim yang sudah jadi kemudian dikemas dalam wadah steril menggunakan teknik aseptik untuk menghindari kontaminasi.
5. Wadah krim disimpan di tempat sejuk, kering, dan terhindar dari sinar matahari langsung, sebelum digunakan.

4.7.5 Perlakuan model luka iris pada kulit tikus

Prosedur pembuatan model luka iris pada kulit tikus Wistar sesuai dengan protokol etika penelitian hewan.

1. Setelah hewan coba diadaptasikan selama 7 hari di laboratorium dengan suhu $22\text{-}25^{\circ}\text{C}$, siklus cahaya 12 jam terang/gelap, serta akses bebas ke pakan dan air untuk mengurangi stres. Anestesi dilakukan dengan

kombinasi ketamin (50-80 mg/kg) dan xylazine (5-10 mg/kg) secara intraperitoneal, memastikan tikus tidak merasakan nyeri selama prosedur.

2. Kondisi anestesi dipastikan dengan tidak adanya respon terhadap rangsangan nyeri ringan. Area punggung tikus dicukur menggunakan mesin pencukur listrik hingga kulit terlihat jelas (diameter 3 cm) dan dibersihkan dengan antiseptik serta alkohol 70% untuk mencegah infeksi.
3. Luka iris dibuat menggunakan pisau bedah steril (scalpel No. 11) dengan panjang 1 cm dan kedalaman maksimal 2 mm. Proses dilakukan tegak lurus sehingga luka mencapai lapisan epidermis hingga dermis atas.
4. Tikus dipantau hingga sadar penuh dalam kandang pemulihan yang hangat.
5. Krim ekstrak mengkudu dengan konsentrasi 15% atau 30% kemudian diaplikasikan langsung pada luka setiap hari sesuai desain penelitian.

4.7.6 Pengambilan Sampel Jaringan untuk pemeriksaan metode ELISA

Setelah pemberian perlakuan, hari ke 8 dilakukan pengambilan jaringan Kulit tikus.

1. Tikus diterminasi dengan menggunakan uap dietil eter sehingga tikus kehilangan kesadaran dan akhirnya mati.
2. Buat sayatan jaringan pada bagian luka iris, menggunakan gunting dan pinset. Sampel jaringan dipotong dan di timbang, selanjutnya jaringan ditambahkan dengan PBS (PH 7,4).
3. Sampel jaringan di homogenisasi (dihancurkan) dalam kondisi dingin,

4°C. selanjutnya setrifus dengan kecepatan 2000-3000 rpm, selama 20 menit.

4. Supernatan yaitu substansi hasil sentrifugasi yang memiliki bobot jenis yang lebih rendah diambil dan digunakan sebagai sampel uji. Penyimpanan sampel pada suhu -20°C.

4.7.7 Pengukuran kadar IL-1 menggunakan ELISA

Sampel jaringan kulit yang sudah diperoleh kemudian dianalisis kadar IL-1 menggunakan metode ELISA. Analisis ELISA kadar IL-1 dilakukan menggunakan reagen *Mouse IL-1 ELISA kit* merk *Thermo Fisher Scientific* dengan mengikuti prosedur yang dilampirkan dalam produk. Pembacaan kadar IL-1 menggunakan microplater reader dengan panjang gelombang 450nm. Tahapan pemeriksaan ELISA :

1. Pembuatan standard

Sepuluh sumuran pada mikroplate disiapkan untuk standard.

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). Buang cairan dari sumuran dan cuci sumuran sebanyak 5 kali dengan larutan pencuci yang telah disiapkan pada tahap 3.
4. Ditambahkan blocking buffer, untuk membuat antigen pada sampel menempel pada plate.

5. 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.
8. Tambahkan 100 ul biotinylated antibodi pada tiap sumuran, 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.
12. Inkubasi plate selama 30 menit, pada suhu 37°C, 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 nilai OD dari sampel.

4.7.8 Preparasi jaringan, ekstraksi DNA dan Analisis PCR terhadap ekspresi PDGF

1. Sampel jaringan kulit diambil berukuran 6 mm pada area kulit bagian tengah punggung yang mengalami luka iris, kemudian disimpan dalam tabung berisi RNA later dan ditempatkan dalam freezer bersuhu -80°C .
2. Proses isolasi RNA dimulai dengan memotong jaringan kulit bagian tengah punggung tikus seberat 10–30 mg dari masing-masing sampel.
3. Jaringan kemudian dihancurkan menggunakan tissue grinder dalam nitrogen cair dan dipindahkan ke tabung bebas RNase.
4. Selanjutnya, ditambahkan 0,3 mL Binding Buffer 4 (yang telah dicampur dengan β -mercaptoetanol) dan 15 μL proteinase K untuk setiap 10 mg jaringan,
5. Homogenisasi dilakukan dengan vortex. Campuran ini diinkubasi selama 10–20 menit pada suhu 56°C untuk memastikan lisis sel yang optimal.
6. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan $12.000 \times g$ selama 5 menit pada suhu kamar, lalu supernatant yang dihasilkan dipindahkan ke tabung bebas RNase yang baru untuk tahap analisis selanjutnya.

Proses uji ekspresi gen diawali dengan:

1. Menyiapkan RNA dari masing-masing sampel serta house-keeping

gene (β -actin) sebagai kontrol perbandingan.

2. Selanjutnya, disiapkan master mix dengan komposisi yang mencakup 2x PerfectStart Green One-Step qRT-PCR SuperMix sebanyak 10 μ L, forward primer (10 μ M) dan reverse primer (10 μ M) masing-masing 0,4 μ L, TransScript® RT/RI Enzyme Mix 0,4 μ L, Passive Reference Dye (50x) sebanyak 0,4 μ L, RNA sampel 5 μ L, serta RNase-free Water 3,4 μ L, sehingga total volume dalam setiap reaksi mencapai 20 μ L.
3. Setelah semua komponen tercampur, pastikan tidak ada gelembung udara dalam campuran. Master mix kemudian dimasukkan ke dalam masing-masing well pada strip tube, dihomogenkan menggunakan vortex, dan dilakukan spindown sebelum PCR dimulai.
4. Program PCR diatur sebagai berikut: tahap reverse transcription pada suhu 50°C selama 5–15 menit (1 siklus), tahap RT dan denaturasi DNA pada suhu 94°C selama 30 detik (1 siklus), diikuti dengan tahap PCR amplifikasi pada suhu 94°C selama 5 detik dan tahap annealing & extension pada suhu 58°C selama 30 detik, yang berlangsung selama 45 siklus. Fluoresensi SYBR Green akan dideteksi pada tahap annealing & extension.
5. Sampel dalam strip tube dimasukkan ke dalam alat PCR, dan program dijalankan sesuai waktu yang telah ditentukan untuk memperoleh data ekspresi gen yang diinginkan.
6. Pastikan kurva amplifikasi menunjukkan pola eksponensial yang

konsisten tanpa adanya anomali. Analisis ekspresi gen relatif dilakukan menggunakan metode $\Delta\Delta C_t$, dengan membandingkan nilai C_t sampel eksperimen terhadap housekeeping gene (β -actin) sebagai kontrol internal.

4.8 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Bagian Kimia untuk pembuatan ekstrak dan krim ekstrak buah mengkudu, sedangkan perlakuan terhadap hewan coba dilakukan di Laboratorium Hewan Coba IBL Unissula, analisis sampel jaringan kulit untuk kadar IL-1 dan ekspresi PDGF dilakukan di Laboratorium CITO Yogyakarta. Penelitian ini dilakukan pada Mei-Juni 2025.

4.9 Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan metode statistik untuk menentukan apakah krim ekstrak buah mengkudu memiliki pengaruh signifikan terhadap kadar IL-1 dan ekspresi PDGF pada jaringan kulit tikus putih galur wistar pasca luka iris.

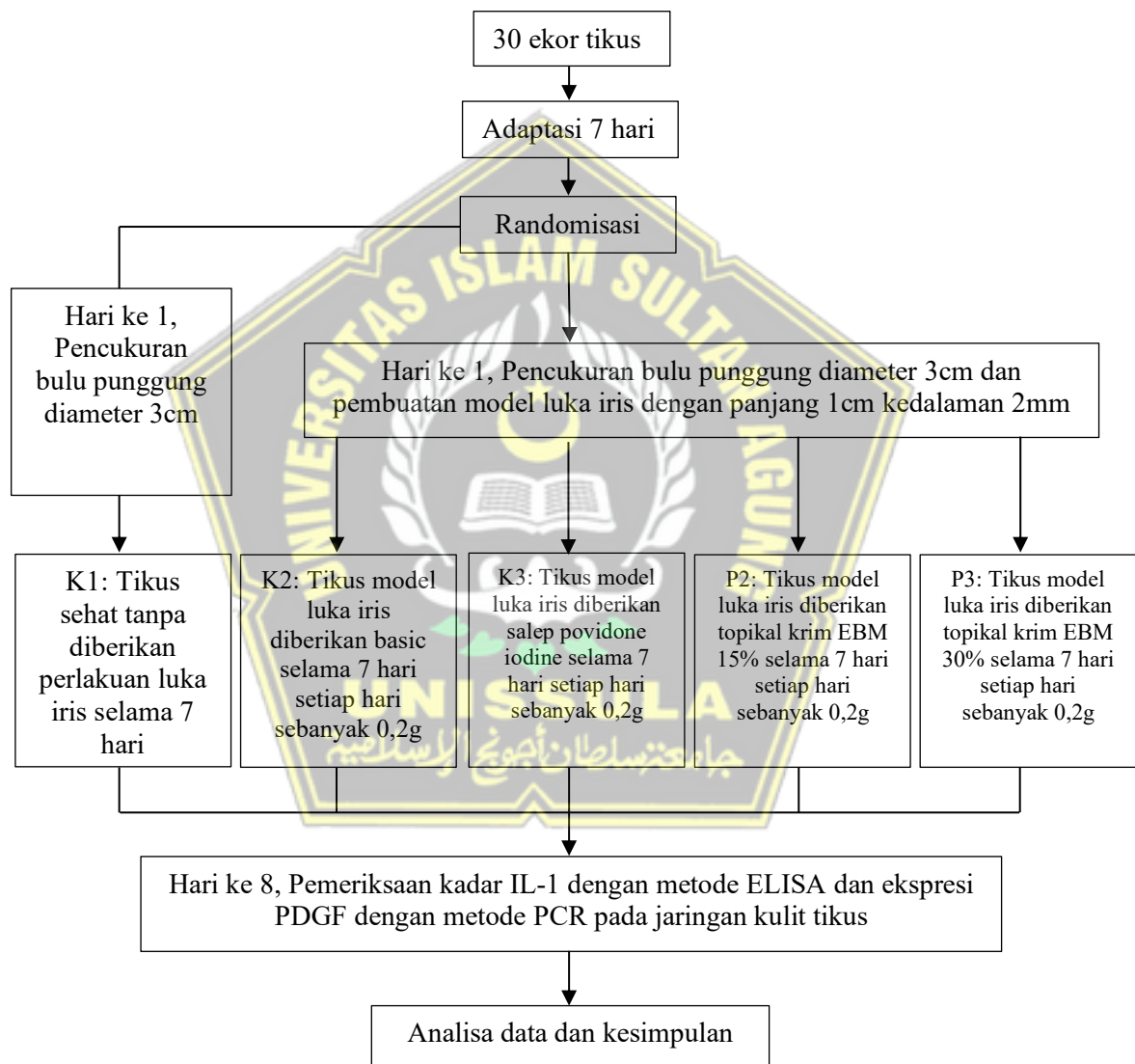
Hasil data dilakukan uji statistik deskriptif yang dilanjutkan dengan normalitas dengan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas data dengan uji *Levene*. Data hasil didapatkan normal dan homogen ($P > 0,05$), terhadap kadar IL-1 dan ekspresi PDGF maka dilakukan uji beda uji *One Way Anova* untuk mengetahui perbedaan antar semua kelompok perlakuan, namun hasil

menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan terhadap kadar IL-1 dan ekspresi PDGF sehingga tidak dilanjutkan dengan uji untuk mengetahui perbedaan antar dua kelompok perlakuan, uji *Post Hoc LSD* maupun *Post Hoc Temhane*. Keputusan untuk diterima atau ditolak hipotesis penelitian berdasarkan α 5 % dan pengolahan analisis data dengan menggunakan aplikasi SPSS 27.



4.10 Alur Penelitian

Berikut adalah alur penelitian pengaruh krim ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) terhadap kadar IL-1 dan ekspresi PDGF pada jaringan kulit tikus wistar model luka iris:



Gambar 4.2 Alur penelitian

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vivo* yang dilakukan pada bulan Mei-Juni 2025` di *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL), Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Sampel yang digunakan adalah tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang dibagi ke dalam lima kelompok, yaitu kelompok tikus sehat (K1), kelompok luka iris yang diberikan *basic cream* (K2), kelompok luka iris yang diberikan salep *povidone iodine* (K3), kelompok luka iris yang diberikan krim ekstrak buah mengkudu dosis 15% (K4), dan kelompok luka iris yang diberikan krim ekstrak buah mengkudu dosis 30% (K5).

Hasil penelitian menyajikan analisis kadar *Interleukin-1* (IL-1) menggunakan metode ELISA dan ekspresi *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF) menggunakan metode PCR terhadap jaringan kulit tikus pasca luka iris, hasil pengujian kandungan senyawa bioaktif dari ekstrak buah mengkudu, serta pembahasan dilakukan dengan mengaitkan hasil penelitian dengan teori dan literatur terdahulu, untuk menjelaskan kemungkinan mekanisme molekuler dari efek pemberian krim ekstrak buah mengkudu terhadap proses penyembuhan luka.

5.1.1 Hasil Analisis Kandungan Flavonoid dan Fenol Total Ekstrak Buah Mengkudu

Analisis kandungan senyawa bioaktif dalam ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dilakukan untuk mengidentifikasi fitokimia dengan uji

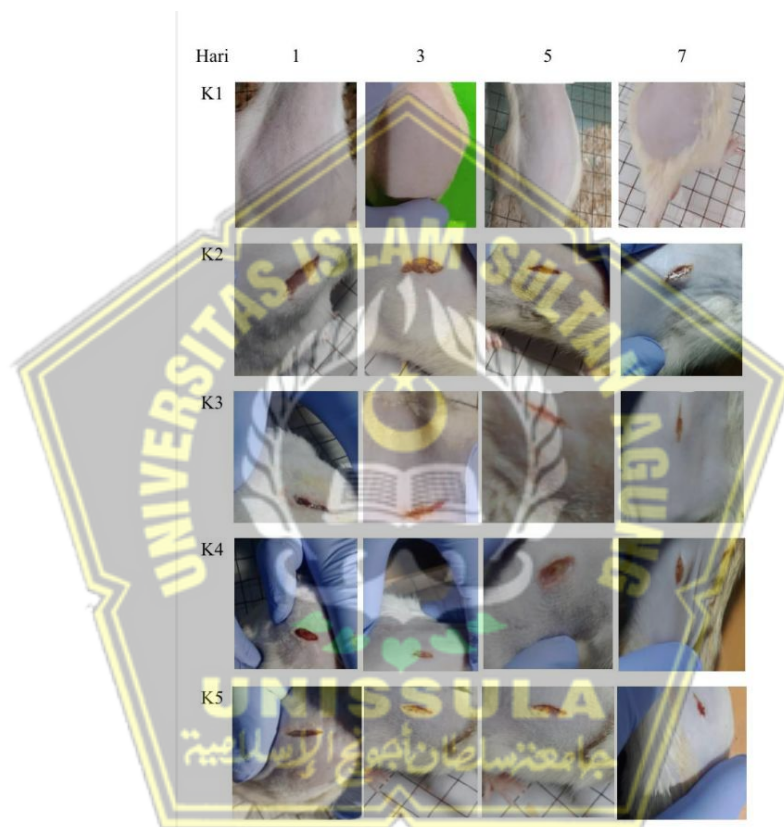
kandungan flavonoid total dilakukan dengan metode spektrofotometri menggunakan standar kuersetin, sedangkan analisis fenol total dilakukan menggunakan metode *Folin Ciocalteu* dengan standar asam galat.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak buah mengkudu mengandung flavonoid total sebesar 0,00305 mg QE/g ekstrak dan fenol total sebesar 90,3 ppm. Kandungan flavonoid diperoleh berdasarkan nilai rata-rata absorbansi sebesar 0,244 dari tiga kali replikasi pada konsentrasi 5000 ppm, yang dihitung terhadap kandungan flavonoid total awal sebesar 15,3 mg/L. Kandungan fenol diperoleh berdasarkan nilai rata-rata absorbansi sebesar 0,481 dari tiga kali replikasi pada konsentrasi 5000 ppm, yang dihitung terhadap kandungan total fenol awal sebesar 90,3 mg/L. Perolehan nilai ini menunjukkan bahwa ekstrak mengkudu memiliki kandungan fenol yang cukup tinggi, yang berpotensi berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan, mengingat senyawa fenolik dikenal mampu menangkap radikal bebas dan menghambat reaksi oksidasi.

Senyawa fenolik dan flavonoid ini diketahui memiliki kemampuan dalam menetralkan radikal bebas serta menekan aktivitas sitokin proinflamasi seperti *Interleukin-1* (IL-1). Senyawa fenol juga diketahui mampu meningkatkan ekspresi faktor pertumbuhan seperti *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF) yang berperan dalam fase proliferasi penyembuhan luka, meskipun kadar flavonoid dalam ekstrak tergolong rendah, keberadaan senyawa fenolik yang cukup tinggi mendukung potensi biologis ekstrak buah mengkudu sebagai agen topikal dalam proses penyembuhan luka, terutama melalui mekanisme molekuler antiinflamasi dan regeneratif.

5.1.2 Gambaran makroskopis pada tikus Wistar model luka iris

Hasil pengamatan makroskopis luka iris pada tikus Wistar menunjukkan dinamika penyembuhan pada setiap kelompok perlakuan, yang ditandai dengan perubahan ukuran luka, warna jaringan, pembentukan krusta, serta eksudat sebagai indikator fase inflamasi, proliferasi, dan awal remodeling (Gambar 5.1).



Gambar 5.1 Makroskopis tikus Wistar model luka iris pada tiap kelompok

Pengamatan makroskopis luka iris pada tikus Wistar memperlihatkan perbedaan progres penyembuhan antar kelompok. Hari pertama, semua kelompok menunjukkan tepi luka jelas dengan warna kemerahan. Pada kelompok povidone iodine dan krim ekstrak buah mengkudu 30% mulai terbentuk krusta tipis lebih awal, sedangkan kelompok basis krim tampak lebih basah dengan eksudat. Memasuki hari ketiga, krusta semakin jelas pada kelompok povidone

iodine dan krim ekstrak buah mengkudu 30%, sementara krim ekstrak buah mengkudu 15% mulai membentuk krusta, dan basis krim masih menunjukkan eksudat dengan krusta tipis. Hari kelima, kelompok krim ekstrak buah mengkudu 30% mengalami penyembuhan lebih cepat dengan diameter luka mengecil, krusta mengering, dan sebagian mulai terlepas, menandakan fase proliferasi dan pembentukan jaringan granulasi yang baik. Kelompok krim ekstrak buah mengkudu 15% menunjukkan pola penyembuhan serupa namun lebih lambat, sedangkan basis krim masih memiliki krusta tebal dan basah yang menandakan penyembuhan terhambat. Hari ketujuh, krim ekstrak buah mengkudu 30% hampir menutup sempurna dengan krusta tipis yang tersisa, sedangkan krim ekstrak buah mengkudu 15% mulai menutup dengan jaringan baru yang lebih matang. Kelompok povidone iodine mengalami penyembuhan moderat, sementara basis krim masih tampak krusta yang belum lepas. Secara keseluruhan, krim ekstrak buah mengkudu 30% memberikan efek percepatan penyembuhan luka paling optimal dibandingkan kelompok lainnya, ditandai dengan pembentukan krusta lebih cepat, penurunan eksudat, dan kontraksi luka lebih signifikan.

5.1.3 Hasil pemeriksaan kadar IL-1 jaringan kulit tikus setelah hari ke 7 perlakuan

Hasil analisis rerata kadar IL-1 setelah hari ke 7 perlakuan pada masing-masing kelompok ditunjukkan pada tabel 5.1 sebagai berikut:

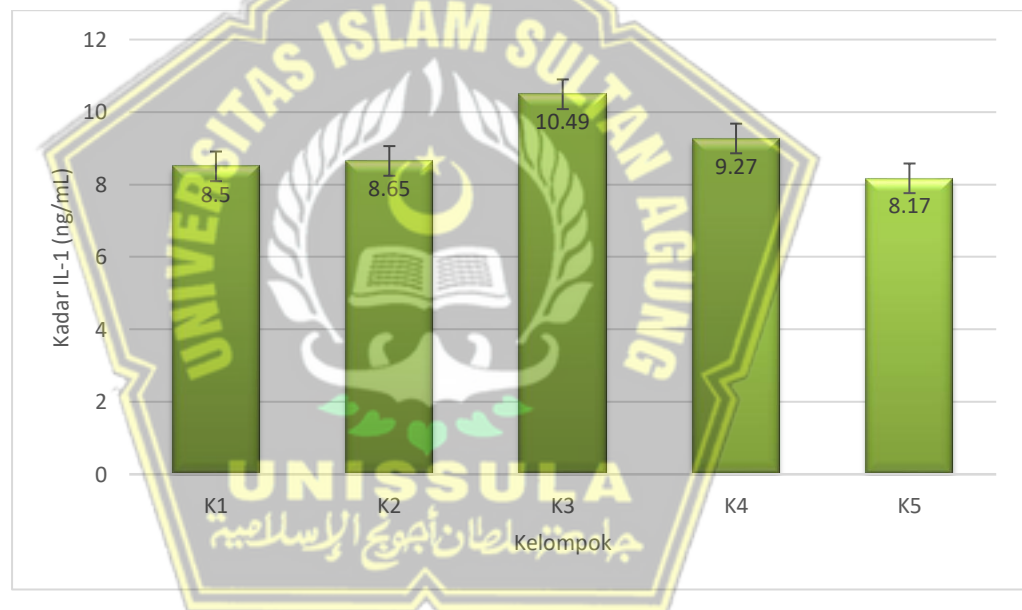
Tabel 5.1 Hasil uji deskriptif rerata kadar IL-1 (ng/mL) dan uji *One way anova* setelah hari ke 7 perlakuan

Kelompok	K1 Kelompok Sehat	K2 <i>Basic Cream</i>	K3 <i>Povidone Iodine</i>	K4 Krim EBM 15%	K5 Krim EBM 30%	<i>P value</i>
Mean	8.50	8.65	10.49	9.27	8.17	
SD	1.24	1.60	1.44	1.29	1.01	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0.204*	0,764*	0,808*	0,564*	0,699*	
<i>Leuvene Test</i>						0.839*
<i>One way anova</i>						0,088

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 normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan menunjukkan bahwa data pada seluruh kelompok terdistribusi normal dengan nilai $p > 0,05$, yaitu K1 sebesar 0,204, K2 sebesar 0,764, K3 sebesar 0,808, K4 sebesar 0,564, dan K5 sebesar 0,699. Uji homogenitas varians menggunakan *Levene Test* menunjukkan hasil sebesar 0,839 ($p > 0,05$), yang berarti data memiliki variansi yang homogen. Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas, maka dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan rerata antar kelompok. Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan nilai p sebesar 0,088 ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik terhadap kadar IL-1 antar kelompok perlakuan.

Berdasarkan tabel 5.1, rerata kadar IL-1 tertinggi ditemukan pada kelompok K3 (*povidone iodine*) sebesar $10,49 \pm 1,44$, sedangkan nilai terendah terdapat pada kelompok K5 (krim EBM 30%) sebesar $8,17 \pm 1,01$. Kelompok sehat (K1) menunjukkan rerata kadar sebesar $8,50 \pm 1,24$, kelompok *basic cream* (K2) sebesar $8,65 \pm 1,60$, dan kelompok krim EBM 15% (K4) sebesar $9,27 \pm 1,29$. Meskipun secara statistik tidak signifikan, terdapat kecenderungan penurunan kadar IL-1 pada kelompok yang diberikan krim EBM 15% dan 30% dibandingkan kelompok *povidone iodine* (Gambar 5.1)



Gambar 5.2 Grafik rerata kadar IL-1 (ng/mL) tiap kelompok

5.1.4 Hasil pemeriksaan Ekspresi PDGF jaringan kulit setelah hari ke 7 perlakuan

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

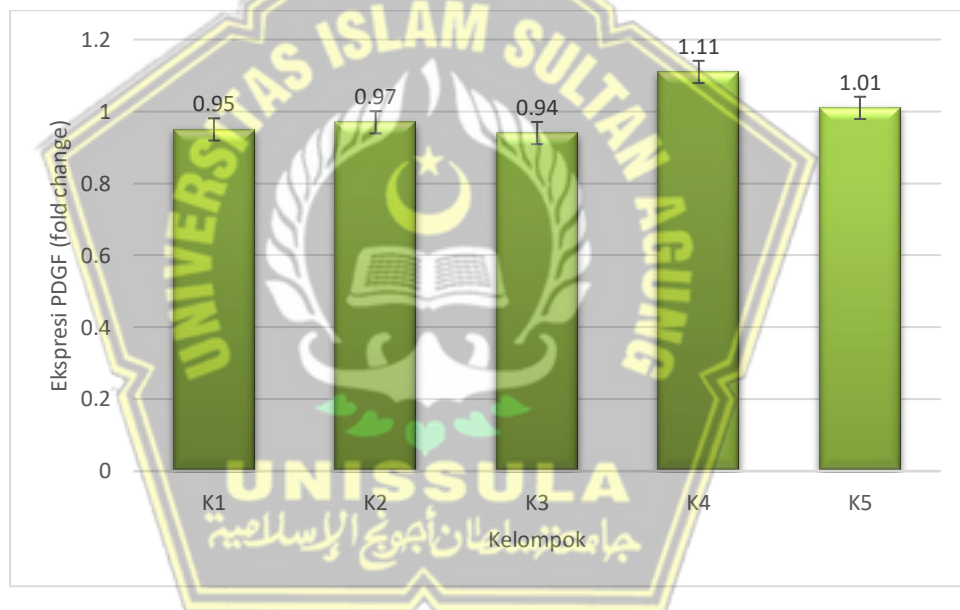
Tabel 5.2 Hasil uji deskriptif rerata ekspresi PDGF (*fold change*) dan *One way anova* setelah hari ke 7 perlakuan

Kelompok	K1 Kelompok Sehat	K2 <i>Basic Cream</i>	K3 <i>Povidone Iodine</i>	K4 Krim EBM 15%	K5 Krim EBM 30%	<i>P value</i>
Mean	0.95	0.97	0.94	1.11	1.01	
SD	0.70	0.11	0.09	0,08	0.09	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,727*	0,783*	0,910*	0,082*	0,740*	
<i>Leuvene Test</i>						0,671*
<i>One way anova</i>						0,056
Keterangan: * <i>Shapiro-Wilk</i> = Normal ($p > 0,05$)						
* <i>Leuvene Test</i> = Normal ($p > 0,05$)						
* <i>One way anova</i> = Signifikan ($p < 0,05$)						

Hasil rerata ekspresi PDGF dianalisis menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk* untuk menentukan distribusi data pada masing-masing kelompok perlakuan. Seluruh kelompok menunjukkan nilai $p > 0,05$, yaitu K1 ($p = 0,727$), K2 ($p = 0,783$), K3 ($p = 0,910$), K4 ($p = 0,082$), dan K5 ($p = 0,740$), sehingga dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal. Selanjutnya, hasil uji homogenitas varians menggunakan *Levene Test* menunjukkan nilai $p = 0,671$ ($p > 0,05$), yang menandakan bahwa data memiliki varians yang homogen antar kelompok.

Karena data memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas, maka dilakukan uji lanjut menggunakan *One Way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan rerata ekspresi PDGF antar kelompok. Berdasarkan hasil uji, diperoleh nilai $p = 0,056$ ($p < 0,05$), yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik terhadap ekspresi PDGF antar kelompok perlakuan. Meskipun demikian, nilai p yang mendekati batas signifikansi mengindikasikan adanya kecenderungan perbedaan yang mungkin memiliki relevansi biologis.

Secara deskriptif, rerata ekspresi PDGF tertinggi ditemukan pada kelompok K4 (krim EBM 15%) sebesar $1,11 \pm 0,08$, diikuti oleh K5 (krim EBM 30%) sebesar $1,01 \pm 0,09$, dan K1 (kelompok sehat) sebesar $0,95 \pm 0,70$. Sedangkan rerata ekspresi PDGF terendah tercatat pada kelompok K3 (*povidone iodine*) sebesar $0,94 \pm 0,09$ dan K2 (*basic cream*) sebesar $0,97 \pm 0,11$. Meskipun perbedaan ini tidak signifikan secara statistik, variasi rerata yang muncul antar kelompok menunjukkan potensi peran dari formulasi krim EBM dalam memodulasi ekspresi PDGF selama proses penyembuhan luka.



Gambar 5.3 Grafik rerata ekspresi PDGF (*fold change*) tiap kelompok

Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan nilai $p = 0,056$ ($p > 0,05$), yang secara statistik tidak signifikan. Namun, karena nilai p berada mendekati ambang signifikansi, maka perbedaan rerata antar kelompok dianggap menunjukkan kecenderungan adanya perbedaan yang potensial, meskipun belum dapat disimpulkan secara pasti. Hal ini dapat menjadi dasar untuk

penelitian lebih lanjut dengan ukuran sampel yang lebih besar atau rentang dosis yang lebih variatif.

5.2 Pembahasan

Berdasarkan hasil rerata kadar IL-1 menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik antar kelompok perlakuan, namun data deskriptif menunjukkan adanya variasi rerata kadar IL-1 antar kelompok. Kelompok yang diberikan *povidone iodine* (K3) memiliki kadar IL-1 tertinggi, sedangkan kadar terendah terdapat pada kelompok krim EBM 30% (K5). Kelompok sehat (K1), *basic cream* (K2), dan krim EBM 15% (K4) menunjukkan kadar IL-1 yang berada di antara kedua kelompok tersebut.

Kelompok yang diberi *povidone iodine* memiliki kadar IL-1 tertinggi dibandingkan seluruh kelompok lainnya. Hal ini mencerminkan bahwa meskipun *povidone iodine* efektif sebagai antiseptik, penggunaannya dapat memperpanjang fase inflamasi akibat iritasi lokal.⁵⁵ Kelompok yang diberi krim ekstrak buah mengkudu dosis 30% menunjukkan kadar IL-1 terendah, bahkan lebih rendah dibandingkan kelompok sehat. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak buah mengkudu mampu menekan respon inflamasi secara efektif. Efek ini berasal dari kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang telah diketahui dapat menghambat jalur NF- κ B, yaitu jalur pensinyalan utama dalam produksi IL-1 dan sitokin proinflamasi lainnya.^{38,56} Penelitian oleh Sinambela et al. (2022) mendukung temuan ini, di mana krim ekstrak mengkudu dengan konsentrasi tinggi terbukti menurunkan kadar IL-1 pada model luka tikus, sehingga mempercepat fase inflamasi menuju fase

proliferasi.¹³

Nilai p yang mendekati ambang batas signifikansi (0,05) mengindikasikan bahwa meskipun tidak signifikan secara statistik, terdapat kecenderungan biologis adanya perbedaan kadar IL-1 antar kelompok. Hal ini sering disebut sebagai *trend toward significance* dan dapat mengandung makna penting secara biologis, terutama dalam konteks jumlah sampel yang terbatas.⁵³ Jumlah sampel yang relatif kecil per kelompok ($n=5$) menurunkan kekuatan uji (*statistical power*), sehingga perbedaan aktual antar kelompok mungkin tidak terdeteksi secara signifikan. Dalam studi *in vivo*, variasi biologis antar hewan uji juga berkontribusi terhadap sebaran data yang lebar, sebagaimana dilaporkan bahwa respon imun pada hewan model dapat bervariasi meskipun perlakuannya identik.⁵⁴

Waktu pengambilan sampel yang hanya dilakukan pada hari ke-7 juga dapat menjadi faktor penting. IL-1 sebagai sitokin proinflamasi umumnya menunjukkan puncak ekspresi pada fase awal luka (24–72 jam pertama), dan kemudian menurun seiring berjalannya waktu dan transisi ke fase proliferasi.⁵⁷ Jika penurunan IL-1 sudah mulai terjadi secara alami pada hari ke-7 di semua kelompok, maka selisih antar kelompok menjadi kurang mencolok secara statistik. Penurunan IL-1 pada kelompok krim EBM 30% dibandingkan kelompok *povidone iodine* dan *basic cream* tetap mendukung hipotesis bahwa ekstrak buah mengkudu mengandung senyawa antiinflamasi seperti flavonoid dan fenol yang bekerja menekan aktivasi jalur inflamasi, khususnya NF- κ B.⁵⁸ Penelitian terdahulu telah melaporkan bahwa flavonoid dari tanaman obat

dapat menurunkan kadar IL-1 pada luka secara bermakna, terutama pada konsentrasi yang cukup tinggi.⁵⁹

Hasil yang tidak signifikan secara statistik dalam penelitian ini perlu diinterpretasikan dengan mempertimbangkan aspek biologis, jumlah sampel, waktu pengambilan data, serta kemungkinan perlunya pengujian pada fase inflamasi yang lebih awal. Penelitian lanjutan dengan jumlah sampel yang lebih besar dan pengambilan data *multitimepoint* (misalnya hari ke-1, ke-3, dan ke-7) sangat disarankan untuk mendapatkan gambaran dinamika kadar IL-1 yang lebih representatif.

Hasil analisis ekspresi PDGF pada hari ke-7 menunjukkan bahwa meskipun terdapat variasi rerata antar kelompok, perbedaan tersebut tidak mencapai signifikansi ($p = 0,056$). Nilai p ini sedikit lebih tinggi dari batas signifikansi (0,05), yang mengindikasikan bahwa secara statistik tidak terdapat perbedaan bermakna dalam ekspresi PDGF antar kelompok perlakuan.

Kelompok krim EBM dosis 15% menunjukkan ekspresi PDGF tertinggi di antara seluruh kelompok, mengindikasikan efek stimulasi optimal terhadap regenerasi jaringan. Senyawa fenolik dan flavonoid dapat meningkatkan ekspresi PDGF melalui aktivasi jalur PI3K/Akt dan MAPK/ERK, yang berperan dalam diferensiasi dan proliferasi sel fibroblas.⁶⁰ Kandungan fenol dalam ekstrak buah mengkudu yang tinggi memperkuat potensi ini. Kelompok *povidone iodine* menunjukkan ekspresi PDGF paling rendah. Hal ini konsisten dengan kadar IL-1 yang tinggi, menandakan bahwa respon inflamasi yang berkepanjangan dapat menghambat fase proliferasi, termasuk ekspresi faktor

pertumbuhan.

Secara keseluruhan, pada penelitian ini krim ekstrak buah mengkudu belum berpengaruh terhadap kadar IL-1 dan ekspresi PDGF, meskipun pada penelitian ini krim ekstrak buah mengkudu dosis 30% paling baik menekan inflamasi, sedangkan dosis 15% paling baik dalam merangsang ekspresi PDGF. ekstrak mengkudu menunjukkan potensi sebagai agen topikal penyembuhan luka dengan efek ganda: antiinflamasi dan stimulasi regenerasi. Perbedaan antar dosis juga menunjukkan bahwa efek terapeutik dari ekstrak mengkudu bersifat dosis-responsif, dan perlu diteliti lebih lanjut untuk menentukan dosis optimal yang seimbang antara efek antiinflamasi dan regeneratif.^{31,61}

Hasil ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan dalam interpretasi. Ukuran sampel yang kecil ($n=5$ per kelompok) membatasi kekuatan statistik dan berpotensi menyebabkan kesalahan yaitu kegagalan mendeteksi perbedaan yang sebenarnya ada. Pengambilan sampel hanya dilakukan pada satu titik waktu (hari ke-7), yang tidak merepresentasikan dinamika penuh proses penyembuhan luka dan ekspresi sitokin seperti IL-1 maupun faktor pertumbuhan seperti PDGF. Pengukuran pada beberapa titik waktu akan lebih menggambarkan kurva ekspresi biomarker dan meminimalkan kemungkinan salah interpretasi terhadap fase penyembuhan luka. Penelitian ini belum menyertakan analisis histopatologis jaringan luka sebagai data pendukung untuk memvalidasi temuan molekuler. Evaluasi jaringan secara mikroskopis penting untuk memastikan korelasi antara kadar

sitokin dan keadaan morfologis luka, termasuk infiltrasi sel inflamasi, reepitelisasi, dan pembentukan jaringan granulasi.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. Pemberian krim ekstrak buah mengkudu tidak memberikan perbedaan yang signifikan terhadap kadar IL-1 dan ekspresi PDGF pada jaringan kulit tikus wistar model luka iris.
2. Rerata kadar IL-1 antar kelompok tidak berbeda secara signifikan setelah pemberian krim ekstrak buah mengkudu dosis 15% dan 30%
3. Rerata ekspresi PDGF antar kelompok tidak berbeda secara signifikan setelah pemberian krim ekstrak buah mengkudu dosis 15% dan 30%

6.2. Saran

1. Penelitian selanjutnya menggunakan jumlah hewan uji yang lebih besar per kelompok agar meningkatkan kekuatan uji statistik dan mengurangi risiko kesalahan.
2. Penelitian berikutnya melakukan analisis dan pengambilan data pada beberapa titik waktu (*multitimepoint sampling*) untuk mendapatkan gambaran dinamika inflamasi dan regenerasi jaringan secara lebih komprehensif.
3. Melakukan pemeriksaan analisis histopatologis jaringan luka
4. Menilai stabilitas dan karakteristik formulasi krim dengan uji stabilitas fisikokimia krim ekstrak mengkudu, termasuk pH, homogenitas, dan daya sebar, untuk memastikan bahwa senyawa aktif tetap efektif selama aplikasi topikal.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pensalfini M, Tepole AB. Mechano-biological and bio-mechanical pathways in cutaneous wound healing. *PLoS Comput Biol.* 2023;19(3). doi:10.1371/journal.pcbi.1010902
2. Gonzalez ACDO, Andrade ZDA, Costa TF, Medrado ARAP. Wound healing - A literature review. *An Bras Dermatol.* 2016;91(5):614-620. doi:10.1590/abd1806-4841.20164741
3. Monika P, Chandraprabha MN, Rangarajan A, Waiker PV, Chidambara Murthy KN. Challenges in Healing Wound: Role of Complementary and Alternative Medicine. *Front Nutr.* 2022;8. doi:10.3389/fnut.2021.791899
4. Almeida ÉS, de Oliveira D, Hotza D. Properties and Applications of Morinda citrifolia (Noni): A Review. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* Published online 2019. doi:10.1111/1541-4337.12456
5. Brilliant GA. Pengaruh Ekstrak Morinda citrifolia L. Terhadap penyembuhan luka insisi. Published online 2020.
6. Sudarto AJ, Parinduri AG. Pola Luka Pada Kematian yang Disebabkan oleh Kekerasan Tajam di RS. Bhayangkara Medan. *Jurnal Ilmiah Maksitek.* 2021;6(2):156-159. <https://www.makarioz.sciencemakarioz.org/index.php/JIM/article/view/262>
7. Fikri K. Potensi Buah Mengkudu (Morinda citrifolia L.) sebagai Anti Radang Pada Luka Gores Mencit Jantan (Morinda citrifolia L. Fruit Potency as Anti Inflammatory in Male Mice Scratch). *Saintifika.* 2015;Volume17,:14-19. <https://jurnal.unej.ac.id/index.php/STF/article/view/3128/2496>
8. Darwis D, Basyir TE, Hardiningsih, L. & Chosdu R. Darwis, D., Basyir, T. E., Hardiningsih, L., & Chosdu, R. (2013). Uji daya antimikroba dan sifat fisiko-kimia pembalut luka hidrogel steril radiasi yang mengandung ekstrak buah mengkudu (Morinda citrifolia L.). *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi.* Published online 2013:38-47.
9. Almadani YH, Vorstenbosch J, Davison PG, Murphy AM. Wound Healing: A Comprehensive Review. *Semin Plast Surg.* 2021;35(3):141-144. doi:10.1055/s-0041-1731791
10. Jian K, Yang C, Li T, et al. PDGF-BB-derived supramolecular hydrogel for promoting skin wound healing. *J Nanobiotechnology.* 2022;20(1). doi:10.1186/s12951-022-01390-0
11. Nayak BS, Sandiford S, Maxwell A. Evaluation of the wound-healing activity of ethanolic extract of Morinda citrifolia L. leaf. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine.* 2009;6(3):351-356. doi:10.1093/ecam/nem127
12. Haestidyatami VL, Sugiritama IW, Linawati NM. Pengaruh ekstrak krim Morinda citrifolia terhadap jumlah fibroblas pada penyembuhan luka tikus Wistar. *Intisari Sains Medis.* 2019;10(3). doi:10.15562/ism.v10i3.487

13. 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
14. 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
15. 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
16. 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
17. 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
18. 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
19. Larouche J, Sheoran S, Maruyama K, Martino MM. Immune regulation of skin wound healing: Mechanisms and novel therapeutic targets. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2018;7(7):209-231. doi:10.1089/wound.2017.0761
20. Hesketh M, Sahin KB, West ZE, Murray RZ. Macrophage phenotypes regulate scar formation and chronic wound healing. *Int J Mol Sci*. 2017;18(7). doi:10.3390/ijms18071545
21. 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
22. 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
23. 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
24. Jian K, Yang C, Li T, et al. PDGF-BB-derived supramolecular hydrogel for promoting skin wound healing. *J Nanobiotechnology*. 2022;20(1):1-10. doi:10.1186/s12951-022-01390-0
25. 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
26. Tsioumpekou M. *Studies of PDGF Receptor Signaling in Vitro and in Vivo*.; 2019.

27. 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
28. 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
29. Yang CY, Guo Y, Wu WJ, Man MQ, Tu Y, He L. UVB-Induced Secretion of IL-1 β Promotes Melanogenesis by Upregulating TYR/TRP-1 Expression In Vitro. *Biomed Res Int.* 2022;2022. doi:10.1155/2022/8230646
30. Heryanto R, Arlianti T, Wahyuni S, Purwiyanti S. Observation and morphological character of Noni (*Morinda citrifolia* L.) in Ciampea, Bogor Regency. In: *E3S Web of Conferences*. Vol 373. EDP Sciences; 2023. doi:10.1051/e3sconf/202337303017
31. Erliani Mugita Sari D, Happy Ernanda T, Studi Farmasi P, Tinggi Ilmu Kesehatan Cendekia Utama Kudus S. Uji AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KRIM EKSTRAK DAUN MENGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) BERBASIS VANISHING CREAM. *Jurnal Ilmiah Jophus : Journal of Pharmacy UMUS.* 2021;03(01):10-18.
32. Widodo H, Siswindari S, Asmara W, Rohman A. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of selected medicinal plants used for liver diseases and its classification with chemometrics. *J Appl Pharm Sci.* 2019;9(6):99-105. doi:10.7324/JAPS.2019.90614
33. Kurahashi T, Fujii J. Roles of antioxidative enzymes in wound healing. *J Dev Biol.* 2015;3(2):57-70. doi:10.3390/jdb3020057
34. Abnaz & Levita. Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa* L.) dan Teori Uji Toksisitas. *Farmaka.* 2018;16:213-221.
35. Kristanti H, Tunjung WAS. Detection of alkaloid, flavonoid, and terpenoid compounds in bread (*Artocarpus communis* Forst.) leaves and pulps. *KnE Life Sciences. KnE Life Sciences.* 2015;2(1):129. doi:10.18502/cls.v2i1.131
36. Slika H, Mansour H, Wehbe N, et al. Therapeutic potential of flavonoids in cancer: ROS-mediated mechanisms. *Biomedicine and Pharmacotherapy.* 2022;146. doi:10.1016/j.biopha.2021.112442
37. Mitra S, Nguyen LN, Akter M, Park G, Choi EH, Kaushik NK. Impact of ROS generated by chemical, physical, and plasma techniques on cancer attenuation. *Cancers (Basel).* 2019;11(7). doi:10.3390/cancers11071030
38. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: An overview. *J Nutr Sci.* 2016;5. doi:10.1017/jns.2016.41
39. Cui Y, Liu B, Sun X, et al. Protective effects of alfalfa saponins on oxidative stress-induced apoptotic cells. *Food Funct.* 2020;11(9):8133-8140. doi:10.1039/d0fo01797c
40. Di Meo F, Cuciniello R, Margarucci S, et al. Ginkgo biloba prevents oxidative stress-induced apoptosis blocking p53 activation in neuroblastoma cells. *Antioxidants.* 2020;9(4).

doi:10.3390/antiox9040279

41. Juang YP, Liang PH. Biological and Pharmacological Effects of Synthetic Saponins. *Molecules*. 2020;25(21). doi:10.3390/molecules25214974
42. Anbar HS, Shehab NG, Yasin A, et al. The wound healing and hypoglycemic activates of date palm (*Phoenix dactylifera*) leaf extract and saponins in diabetic and normal rats. *PLoS One*. 2024;19(9):1-20. doi:10.1371/journal.pone.0308879
43. Mabruroh A. Uji aktivitas antioksidan ekstrak tanin dari daun rumput bambu (*Iopatherum gracile brongn*) dan identifikasinya (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim). Published online 2015.
44. 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
45. Takeo M, Lee W, Ito M. Wound healing and skin regeneration. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015;5(1). doi:10.1101/cshperspect.a023267
46. Fannani MZ, Nugroho T. *Pengaruh Salep Ekstrak Etanol Daun Sirih (Piper Betle) Terhadap Penyembuhan Luka Iris Pada Tikus Putih Jantan (Rattus Norvegicus)*. *JKKI: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia*, 20-27. Vol 6.; 2014.
47. Nayak BS, Sandiford S, Maxwell A. Evaluation of the wound-healing activity of ethanolic extract of *Morinda citrifolia* L. leaf. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2009;6(3):351-356. doi:10.1093/ecam/nem127
48. Krizanova O, Penesova A, Sokol J, Hokynkova A, Samadian A, Babula P. Signaling pathways in cutaneous wound healing. *Front Physiol*. 2022;13. doi:10.3389/fphys.2022.1030851
49. Wilkinson HN, Hardman MJ. Wound healing: Cellular mechanisms and pathological outcomes. In: *Advances in Surgical and Medical Specialties*. Taylor and Francis; 2023:341-370. doi:10.1098/rsob.200223
50. Zhang F, Qiao S, Li C, Wu B, Reischl S, Neumann PA. The immunologic changes during different phases of intestinal anastomotic healing. *J Clin Lab Anal*. 2020;34(11). doi:10.1002/jcla.23493
51. Ly HT, Pham Nguyen MT, Nguyen TKO, Bui TPQ, Ke X, Le VM. Phytochemical Analysis and Wound-Healing Activity of Noni (*Morinda Citrifolia*) Leaf Extract. *J Herbs Spices Med Plants*. 2020;26(4):379-393. doi:10.1080/10496475.2020.1748159
52. Trieu LH, Quynh DNN, Oanh NTK, et al. Wound-healing potential of topical application of preparations from Noni (*Morinda citrifolia* L.) leaf extract. *Indian J Nat Prod Resour*. 2023;14(2):255-269. doi:10.56042/ijnpr.v14i2.4210
53. Kramer SA. *Effect of Povidone-Iodine on Wound Healing: A Review*.; 1999.
54. Saewan N, Jimtaisong A. Photoprotection of natural flavonoids. *J Appl Pharm Sci*. 2013;3(9):129-141. doi:10.7324/JAPS.2013.3923
55. Hanafi Azman Ong M, Puteh F, Teknologi MARA U, Alam Selangor S.

- Quantitative Data Analysis: Choosing Between SPSS, PLS and AMOS in Social Science Research. *International Interdisciplinary Journal of Scientific Research*. 2017;3(1):14-25. www.ijssr.org
56. Kawai T, Ikegawa M, Ori D, Akira S. Decoding Toll-like receptors: Recent insights and perspectives in innate immunity. *Immunity*. 2024;57(4):649-673. doi:10.1016/j.immuni.2024.03.004
 57. Sorg H, Sorg CGG. Skin Wound Healing: Of Players, Patterns, and Processes. *European Surgical Research*. 2023;64(2):141-157. doi:10.1159/000528271
 58. Kong P, Cui ZY, Huang XF, Zhang DD, Guo RJ, Han M. Inflammation and atherosclerosis: signaling pathways and therapeutic intervention. *Signal Transduct Target Ther*. 2022;7(1). doi:10.1038/s41392-022-00955-7
 59. Dias MC, Pinto DCGA, Silva AMS. Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. *Molecules*. 2021;26(17):1-16. doi:10.3390/molecules26175377
 60. Zulkefli N, Che Zahari CNM, Sayuti NH, et al. Flavonoids as Potential Wound-Healing Molecules: Emphasis on Pathways Perspective. *Int J Mol Sci*. 2023;24(5). doi:10.3390/ijms24054607
 61. 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.
 62. 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
 63. 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
 64. 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
 65. 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
 66. Ritsu M, Kawakami K, Kanno E, et al. Critical role of tumor necrosis factor- α in the early process of wound healing in skin. *Journal of Dermatology & Dermatologic Surgery*. Published online 2017;(1):14-9.
 67. 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
 68. Bigliardi PL, Alsagoff SAL, El-Kafrawi HY, Pyon JK, Wa CTC, Villa MA. Povidone iodine in wound healing: A review of current concepts and practices. *International Journal of Surgery*. 2017;44:260-268. doi:10.1016/j.ijssu.2017.06.073

69. Rohman A, Riyanto S, Hidayati NK. Aktivitas Antioksidan, Kandungan Fenolik Total, Dan Flavonoid Total Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L). *Agritech*. 2007;27(4):147-151.
70. Pertiwi R, Manaf S, Supriati R, Saputra HM, Ramadhanti F. Pengaruh Pemberian Salep Kombinasi Ekstrak Daun *Morinda citrifolia* dan Batang *Euphorbia tirucalli* terhadap Penyembuhan Luka. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2020;7(1):42. doi:10.20473/jfiki.v7i12020.42-50
71. Halimah H, Margi Suci D, Wijayanti I. Study of the Potential Use of Noni Leaves (*Morinda citrifolia* L.) as an Antibacterial Agent for *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 2019;24(1):58-64. doi:10.18343/jipi.24.1.58
72. HS Z, Putra A. Peran Mesenchymal Stem Cells dalam Regulasi PDGF dan Sel Islet pada Diabetes. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2018;30(2):98-102. doi:10.21776/ub.jkb.2018.030.02.4
73. Das S, Majid M, Baker AB. Syndecan-4 enhances PDGF-BB activity in diabetic wound healing. *Acta Biomater*. 2016;42:56-65. doi:10.1016/j.actbio.2016.07.001
74. Sabirin IPR, Yuslianti ER. Effect of Topical Noni (*Morinda citrifolia* L.) Leaf Extract Paste in Carrageenan-induced Paw Edema on Wistar Rats. *Global Medical & Health Communication (GMHC)*. 2019;7(2):116-122. doi:10.29313/gmhc.v7i2.4087

