

Pengaruh Gel Kombinasi Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*) dan Aloe Vera (*Aloe barbadensis*) terhadap Kadar Interleukin-6 (IL-6) dan Superoxide Dismutase (SOD)
(Studi Eksperimental pada Tikus Wistar Model Luka Bakar Derajat II)

TESIS

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



Magister Ilmu Biomedik

Angie

MBK.24.23.010427

PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG

2025

HALAMAN PENGESAHAN
TESIS
PENGARUH GEL KOMBINASI EKSTRAK DAUN SIRIH
(*PIPER BETLE*) DAN ALOE VERA (*ALOE BARBADENSIS*)
TERHADAP KADAR INTERLEUKIN-6 (IL-6) DAN
SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD)
(Studi Eksperimental pada Tikus Wistar Model Luka Bakar Derajat II)

Disusun oleh
Angie
MBK.24.23.010427

akan dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 27 Agustus 2025
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I



Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan Sp. D.V.E.,
Subsp.D.K.E, FINS DV, FAADV

NIDN. 8951110021

Pembimbing II



Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes

NIK. 210198046

Mengetahui,

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



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

NIK. 210 113 160

PERNYATAAN

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



RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Angie
Tempat tanggal lahir : Jakarta, 2 november 1994
Agama : Kristen
Jenis kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK Teratai Ps.Minggu Jaksel : Lulus tahun 1999
2. SDS Bhakti Tugas : Lulus tahun 2005
3. SMPN 98 Jakarta : Lulus tahun 2009
4. SMAN 109 Jakarta : Lulus tahun 2012
5. S1 Fakultas kedokteran UKRIDA : Lulus tahun 2018
6. Profesi Dokter UKRIDA : Lulus tahun 2020

C. Riwayat Keluarga

Suami : dr. Agung Rondonuwu
Anak : -

KATA PENGANTAR

Dengan penuh rasa syukur, penulis menyampaikan terima kasih atas segala berkat, kesempatan, dan dukungan yang telah diberikan, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan proposal tesis dengan judul " Pengaruh Gel Kombinasi Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*) dan Aloe Vera (*Aloe barbadensis*) terhadap Kadar Interleukin-6 (IL-6) dan Superoxide Dismutase (SOD) (Studi Eksperimental pada Tikus Wistar Model Luka Bakar Derajat II)" ini dengan baik.

Proposal tesis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Ilmu Biomedik pada Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang.

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Prof. Dr. H. Gunarto, S.H., M.H.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF., S.H.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B., FINACS.
4. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp.D.V.E., SUBSp.D.K.E., selaku pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan dukungan selama proses penyusunan proposal ini.

5. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes., selaku pembimbing kedua yang telah memberikan banyak masukan, saran, dan waktu dalam proses penyusunan ini.
6. Prof. Dr. Dra. Atina Husaana, M.Si., Apt., selaku Penguji I, atas segala waktu, perhatian, dan masukan yang berharga dalam proses penyelesaian penelitian ini.
7. Prof. Dr. Ir. Hj. Titiek Sumarawati, M.Kes, selaku Penguji II, yang telah memberikan pengetahuan, saran, dan bimbingan yang sangat membantu dalam memperbaiki kualitas karya ilmiah ini.
8. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS, selaku Penguji III, yang telah memberikan kritik konstruktif dan wawasan mendalam yang memperkaya penelitian ini.
9. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang atas ilmu, arahan, dan semangat yang diberikan selama masa perkuliahan.
10. Staf administrasi Program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang atas bantuan dan dukungan administrasi.
11. Serta semua pihak yang telah memberikan bantuan, baik secara langsung maupun tidak langsung, yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan proposal ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang membangun untuk perbaikan di masa mendatang.

Semoga proposal tesis ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang biomedik.

Semarang, 27 Agustus 2025

Penulis,



Angie



ABSTRAK

Latar Belakang: Luka bakar derajat II menyebabkan peradangan dan stres oksidatif yang menghambat penyembuhan. Penggunaan gel kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe Vera (*Aloe barbadensis*) diharapkan dapat menurunkan IL-6 dan meningkatkan SOD dan mempercepat proses penyembuhan luka bakar. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh gel kombinasi ekstrak daun sirih dan Aloe vera terhadap kadar IL-6 dan SOD pada model luka bakar derajat II.

Metode: Penelitian ini menggunakan *post-test only control group design*. Sebanyak 20 ekor tikus Wistar jantan dibagi ke dalam empat kelompok perlakuan, yaitu K1 (base gel), K2 (gel daun sirih 20%), K3 (gel aloe vera 3%), dan K4 (kombinasi gel daun sirih 10% + Aloe vera 1,5%). Luka bakar derajat II diinduksi dan perlakuan topikal diberikan selama 6 hari. Pengukuran kadar IL-6 dan SOD dilakukan pada hari ke-7.

Hasil: Kelompok K4 (kombinasi gel daun sirih 10% + Aloe vera 1,5%) menunjukkan kadar IL-6 sebesar $2,046 \pm 0,621$ ng/L, yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol, meskipun perbedaannya tidak signifikan ($p=0,128$). Kadar SOD pada kelompok K4 tercatat sebesar $1,980 \pm 0,200$ ng/L, yang berbeda signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p=0,016$).

Kesimpulan: Gel kombinasi ekstrak daun sirih dan Aloe vera meningkatkan kadar SOD secara signifikan pada luka bakar derajat II, sementara penurunan kadar IL-6 tidak menunjukkan perbedaan signifikan.

Kata Kunci: gel kombinasi, ekstrak daun sirih, aloe vera, IL-6, SOD, luka bakar derajat II

ABSTRACT

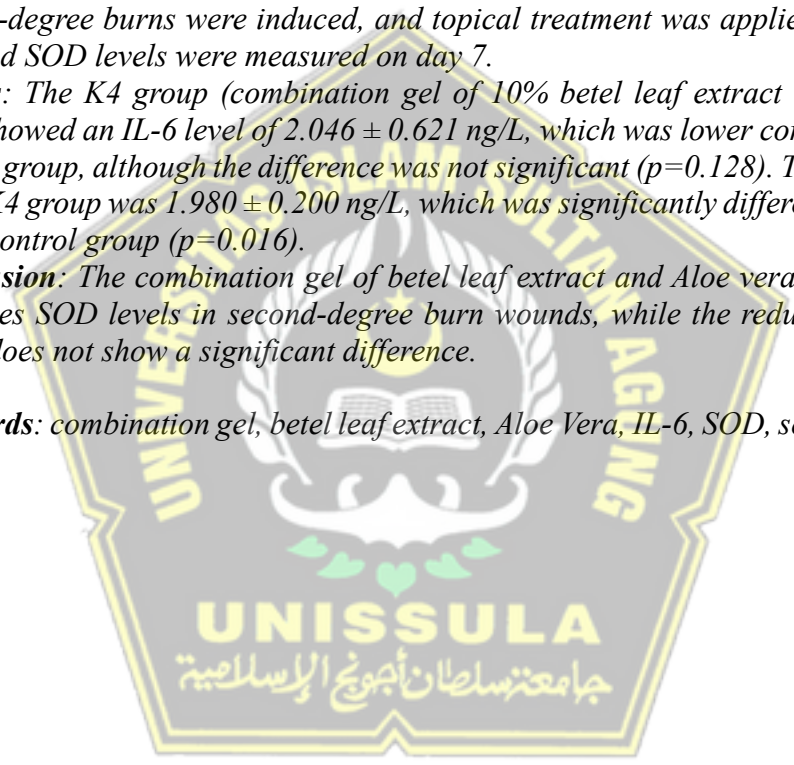
Background: Second-degree burns cause inflammation and oxidative stress, which hinder the healing process. The use of a gel combination of betel leaf extract (*Piper betle*) and Aloe vera (*Aloe barbadensis*) is expected to reduce IL-6 levels, increase SOD, and accelerate the healing of burn wounds. This study aims to analyze the effect of the gel combination of betel leaf extract and Aloe vera on IL-6 and SOD levels in a second-degree burn model.

Methods: This study uses a post-test only control group design. A total of 20 male Wistar rats were divided into four treatment groups: K1 (base gel), K2 (20% betel leaf gel), K3 (3% Aloe vera gel), and K4 (10% betel leaf gel + 1.5% Aloe vera gel). Second-degree burns were induced, and topical treatment was applied for 6 days. IL-6 and SOD levels were measured on day 7.

Results: The K4 group (combination gel of 10% betel leaf extract + 1.5% Aloe vera) showed an IL-6 level of 2.046 ± 0.621 ng/L, which was lower compared to the control group, although the difference was not significant ($p=0.128$). The SOD level in the K4 group was 1.980 ± 0.200 ng/L, which was significantly different compared to the control group ($p=0.016$).

Conclusion: The combination gel of betel leaf extract and Aloe vera significantly increases SOD levels in second-degree burn wounds, while the reduction in IL-6 levels does not show a significant difference.

Keywords: combination gel, betel leaf extract, Aloe Vera, IL-6, SOD, second-degree burn.



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK.....	viii
<i>ABSTRACT</i>	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1. Tujuan Umum	3
1.3.2. Tujuan Khusus.....	3
1.4. Manfaat Penelitian	4
1.4.1. Manfaat Teoritis	4
1.4.2. Manfaat Praktis	4
1.5. Originalitas Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1. <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS)	10
2.2. Interleukin (IL-6)	11
2.2.1. Mekanisme IL-6	13
2.2.2. Mekanisme Aktivasi IL-6 pada kondisi luka bakar.....	13
2.2.3. Alat ukur <i>interleukin-6</i>	16
2.3. Superoxide Dismutase (SOD)	16

2.3.1. Mekanisme Superoxide Dismutase (SOD)	19
2.4. Jalur Molekuler PI3K/AKT/NF- κ B dalam Efek Antiinflamasi dan Antioksidan Bahan Aktif.....	22
2.5. Faktor – faktor yang mempengaruhi kadar Interleukin-6 dan SOD (Superoxide Dismutase).....	24
2.5.1. Usia	24
2.5.2. Merokok	26
2.5.3. Diabetes Melitus.....	27
2.5.4. Penyakit jantung	28
2.6. Anatomi dan Histologi Kulit	29
2.6.1. Epidermis	29
2.6.2. Dermis.....	31
2.7. Luka Bakar Derajat II.....	32
2.8. Fase Penyembuhan Luka Bakar	34
2.8.1. Fase Hemostasis	34
2.8.2. Fase Inflamasi	35
2.8.3. Fase Proliferasi.....	36
2.8.4. Fase Remodelling.....	37
2.9. Daun Sirih (<i>Piper betle</i>).....	37
2.10. Aloe vera (<i>Aloe barbadensis</i>).....	40
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	43
3.1. Kerangka Teori.....	43
3.2. Kerangka Konsep	46
3.3. Hipotesis Penelitian.....	47
BAB IV METODE PENELITIAN	48
4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	48
4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	49
4.2.1. Variabel Penelitian	49
4.2.2. Definisi Operasional.....	51
4.3. Populasi dan Sampel	53
4.3.1. Populasi dan Sampel	53

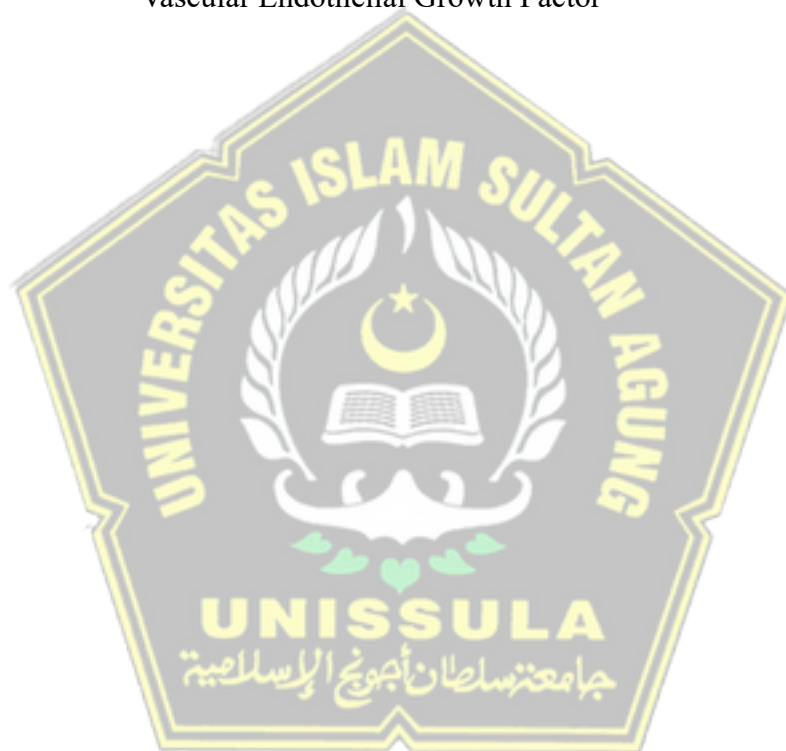
4.3.2.	Besar Sampel.....	54
4.3.3.	Cara Pengambilan Sampel Penelitian	55
4.4.	Alat dan Bahan Penelitian.....	55
4.4.1.	Alat.....	55
4.4.2.	Bahan.....	56
4.5.	Cara Penelitian	56
4.5.1.	Perolehan Ethical Clearance	56
4.5.2.	Cara Pembuatan Ekstrak Daun Sirih dan Aloe Vera	57
4.5.3.	Pembuatan Sediaan Gel Ekstrak Daun Sirih dan Aloe Vera	58
4.5.4.	Penetapan Dosis	60
4.5.5.	Cara Persiapan Sebelum Perlakuan.....	60
4.5.6.	Cara Pemberian Luka Bakar Derajat II.....	60
4.5.7.	Pemberian Perlakuan Gel	61
4.5.8.	Pengukuran Kadar IL-6 dan Superoxide Dismutase (SOD).	62
4.6.	Alur Penelitian	65
4.7.	Tempat dan Waktu Penelitian	66
4.8.	Analisis Data	67
BAB V.....		68
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		68
5.1.	Hasil Penelitian	68
5.1.1.	Hasil Pemeriksaan Kadar IL-6 pada Serum Darah	70
5.1.2.	Hasil Pemeriksaan Kadar SOD pada Serum Darah	73
5.1.3.	Gambaran Makroskopis pada Luka Eksisi Antar Kelompok.....	77
5.2.	Pembahasan.....	81
BAB VI		91
KESIMPULAN DAN SARAN.....		91
6.1	Kesimpulan	91
6.2	Saran.....	91
DAFTAR PUSTAKA.....		93
LAMPIRAN.....		97

DAFTAR SINGKATAN

AKT	Protein Kinase B
ALS	Amyotrophic Lateral Sclerosis
ANOVA	Analysis of Variance
ATP	Adenosine Triphosphate
BPOM	Badan Pengawas Obat dan Makanan
CD4+	Cluster of Differentiation 4 Positive
COA	Certificate of Analysis
CRP	C-Reactive Protein
CPKB	Cara Pembuatan Kosmetik yang Baik
DAMPs	Damage-Associated Molecular Patterns
DNA	Deoxyribonucleic Acid
EC-SOD	Extracellular Superoxide Dismutase (SOD3)
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
GLP	Good Laboratory Practice
GSH	Glutathione
H ₂ O ₂	Hidrogen Peroksida
HMGB1	High Mobility Group Box 1
IFN-β	Interferon Beta
IL-1	Interleukin-1
IL-1β	Interleukin-1 Beta
IL-6	Interleukin-6
IL-10	Interleukin-10
JAK	Janus Kinase

LD50	Lethal Dose 50
LDH	Lactate Dehydrogenase
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
MDA	Malondialdehyde
MCAO/R	Middle Cerebral Artery Occlusion/Reperfusion
MSDS	Material Safety Data Sheet
mTOR	Mammalian Target of Rapamycin
NF- κ B	Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
OD	Optical Density
PAMPs	Pathogen-Associated Molecular Patterns
PBS	Phosphate Buffered Saline
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor
pg/ml	Pikogram per mililiter
PI3K	Phosphoinositide 3-Kinase
PJK	Penyakit Jantung Koroner
RNS	Reactive Nitrogen Species
ROS	Reactive Oxygen Species
SAA	Serum Amyloid A
SOD	Superoxide Dismutase
SOD1	Superoxide Dismutase 1 (Cu/Zn-SOD)
SOD2	Superoxide Dismutase 2 (Mn-SOD)
SOD3	Superoxide Dismutase 3 (EC-SOD)
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
STAT3	Signal Transducer and Activator of Transcription 3

TBSA	Total Body Surface Area
TGF- β 1	Transforming Growth Factor Beta 1
TLR4	Toll-like Receptor 4
TLRs	Toll-like Receptors
TNF- α	Tumor Necrosis Factor-alpha
UV	Ultraviolet
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor



DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian	7
Tabel 5.1 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar IL-6 dan One Way ANOVA.....	70
Tabel 5.2 Hasil Uji Post Hoc Tamhane setelah Perlakuan Hari ke-7 terhadap Rata-rata Kadar IL-6.....	72
Tabel 5.3 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar SOD dan Uji One-Way ANOVA	74
Tabel 5.4 Hasil Uji Post Hoc Mann Whitney setelah Perlakuan terhadap Rata-rata Kadar SOD.....	76

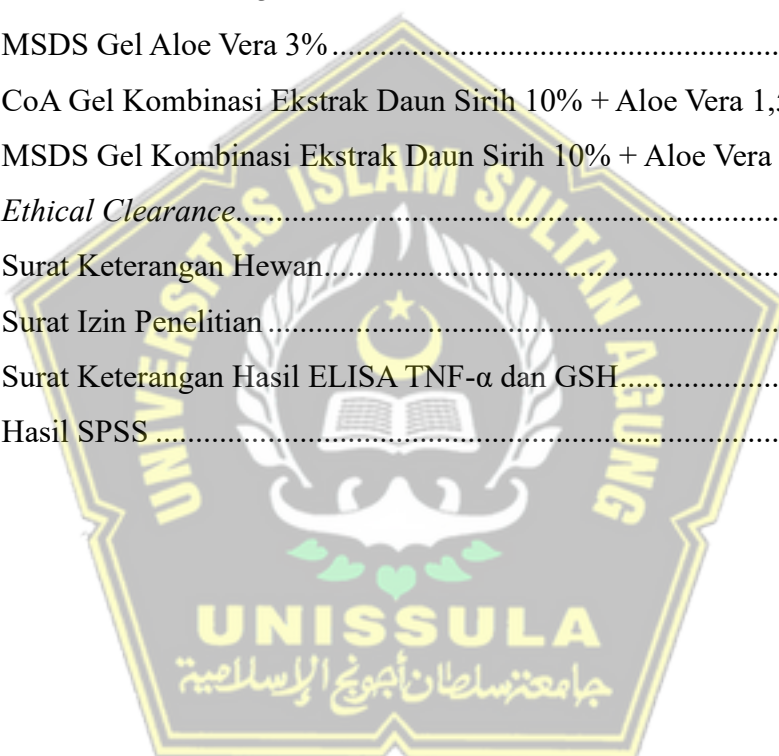


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Reaksi superoxide anion ¹³	17
Gambar 2.2 Reaksi superoxide SOD1, SOD2 dan SOD3 ¹⁶	20
Gambar 2.3 Struktur kulit (Sumber : dermnetnz.org)	29
Gambar 2.4 Klasifikasi Luka Bakar ²⁵	34
Gambar 2.5 Daun Sirih (<i>Piper betle</i>) ²⁹	38
Gambar 2.6 Phytochemical daun sirih (<i>Piper betle</i>) ²⁹	40
Gambar 2.7 Aloe vera (<i>Aloe barbadensis</i>) ³¹	41
Gambar 2.8 Phytochemical Aloe vera (<i>Aloe barbadensis</i>) ³⁰	42
Gambar 3.1 Kerangka Teori	46
Gambar 3.2 Kerangka Konsep	46
Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian	48
Gambar 4.2 Alur Penelitian	65
Gambar 5.1 Diagram Batang Kadar IL-6 setiap Kelompok	73
Gambar 5.2 Boxplot Distribusi Kadar SOD pada Setiap Kelompok Perlakuan ...	76
Gambar 5.3 Diagram Batang Kadar SOD setiap Kelompok	77
Gambar 5.4 Gambaran Makroskopis Hari ke-0 (H0) dan Gambaran Makroskopis Luka Bakar II pada Hari ke-7 (H7) Antar Kelompok Perlakuan (K1: Luka Bakar + Base Gel; K2: Luka Bakar + Gel Daun Sirih 20%; K3: Luka Bakar + Gel Aloe Vera 3%; K4: Luka Bakar + Gel Kombinasi Daun Sirih 10% + Aloe Vera 1,5%)	78

DAFTAR LAMPIRAN

1. CoA Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i>)	97
2. MSDS Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i>).....	98
3. CoA Ekstrak Aloe Vera (<i>Aloe barbadensis</i>).....	100
4. MSDS Ekstrak Aloe Vera (<i>Aloe barbadensis</i>)	101
5. CoA Gel Daun Sirih 20%.....	103
6. MSDS Gel Daun Sirih 20%	104
7. CoA Gel Aloe Vera 3%	105
8. MSDS Gel Aloe Vera 3%	106
9. CoA Gel Kombinasi Ekstrak Daun Sirih 10% + Aloe Vera 1,5%.....	107
10. MSDS Gel Kombinasi Ekstrak Daun Sirih 10% + Aloe Vera 1,5%	108
11. <i>Ethical Clearance</i>	109
12. Surat Keterangan Hewan.....	110
13. Surat Izin Penelitian	112
14. Surat Keterangan Hasil ELISA TNF- α dan GSH.....	113
15. Hasil SPSS	114



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Luka bakar derajat II merupakan jenis luka bakar yang melibatkan kerusakan pada lapisan epidermis dan sebagian besar dermis retikularis, namun tidak sampai mencapai jaringan subkutan. Luka ini seringkali menyebabkan peradangan yang berlangsung lama dan memperlambat proses penyembuhan jika tidak ditangani dengan tepat. Salah satu faktor utama yang berkontribusi terhadap proses ini adalah reaksi inflamasi yang berlebihan, di mana interleukin-6 (IL-6) berperan sebagai mediator proinflamasi utama. Pada kondisi luka bakar derajat II, respon inflamasi yang berlebihan dapat menghambat transisi dari fase inflamasi ke fase proliferasi, sehingga memperburuk penyembuhan luka. Selain inflamasi, proses penyembuhan luka juga dipengaruhi oleh stres oksidatif yang disebabkan oleh peningkatan produksi radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS dapat merusak membran sel, protein, dan DNA, serta mengurangi aktivitas enzim antioksidan seperti Superoxide Dismutase (SOD), yang penting untuk detoksifikasi radikal bebas. Oleh karena itu, intervensi yang dapat menurunkan kadar IL-6 dan meningkatkan aktivitas SOD sangat dibutuhkan untuk mempercepat proses penyembuhan luka bakar derajat II^{1,2}.

Penyembuhan luka pada luka bakar derajat II sering mengalami kendala, baik dari segi inflamasi maupun ketidakseimbangan redoks. IL-6 yang meningkat dapat menginduksi berbagai reaksi imun yang memperburuk inflamasi dan memperlambat pembentukan jaringan baru pada luka. Sebagai contoh, IL-6 dapat

meningkatkan jumlah neutrofil dan makrofag yang mendominasi area luka, yang justru menyebabkan kerusakan jaringan lebih lanjut. Di sisi lain, ROS yang berlebihan juga menjadi salah satu penyebab utama kerusakan jaringan pada luka bakar. Aktivitas SOD yang menurun dalam kondisi ini memperburuk efek oksidatif, memperlambat proses penyembuhan dan menyebabkan jaringan yang lebih rentan terhadap infeksi. Oleh karena itu, perlu dilakukan pencarian solusi yang dapat mengatasi kedua permasalahan ini secara bersamaan untuk mempercepat penyembuhan luka bakar derajat II³.

Salah satu solusi yang dapat ditawarkan adalah penggunaan bahan alami yang memiliki sifat antiinflamasi dan antioksidan yang kuat. *Piper betle* (daun sirih) dan Aloe vera (lidah buaya) telah dikenal luas dalam pengobatan tradisional sebagai bahan alami yang dapat membantu mengatasi peradangan dan meningkatkan regenerasi jaringan. Ekstrak daun sirih mengandung senyawa aktif seperti eugenol, yang berfungsi menghambat jalur pensinyalan inflamasi, terutama jalur PI3K/AKT/NF- κ B, yang bertanggung jawab untuk aktivasi gen proinflamasi termasuk IL-6. Selain itu, senyawa ini juga dapat mengurangi pembentukan ROS dengan meningkatkan aktivitas antioksidan. Selain itu, aloe vera juga mengandung polisakarida, aloin, dan emodin yang telah terbukti memiliki efek antiinflamasi dan antioksidan. Senyawa-senyawa ini dapat merangsang sintesis kolagen, meningkatkan proliferasi sel fibroblas, serta meningkatkan ekspresi SOD yang dapat mengurangi kerusakan oksidatif pada jaringan luka. Kombinasi ekstrak daun sirih dan Aloe vera dalam bentuk gel topikal dapat memberikan efek sinergis dalam mengatasi masalah inflamasi dan stres oksidatif pada luka bakar derajat II^{4,5}.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas gel kombinasi ekstrak daun sirih dan Aloe vera terhadap kadar IL-6 dan SOD pada model luka bakar derajat II. Dengan menggunakan pendekatan ini, diharapkan dapat ditemukan alternatif terapi yang lebih efektif dan aman untuk mempercepat penyembuhan luka bakar tanpa menimbulkan efek samping yang signifikan. Penelitian ini juga akan menambah wawasan mengenai potensi penggunaan bahan alam dalam perawatan luka bakar, serta memberikan kontribusi dalam pengembangan terapi berbasis tanaman alami yang dapat diakses oleh masyarakat luas¹.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh gel kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan aloe vera (*Aloe barbadensis*) terhadap kadar interleukin-6 (IL-6) dan Superoxide Dismutase (SOD) pada luka tikus Wistar dengan luka bakar derajat II?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh gel kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) terhadap kadar Interleukin-6 (IL-6) dan Superoxide Dismutase (SOD) pada model luka bakar derajat II pada tikus Wistar.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Menganalisis pengaruh gel kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) terhadap penurunan

kadar IL-6 pada luka bakar derajat II.

2. Menganalisis pengaruh gel kombinasi ekstrak daun (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) terhadap peningkatan kadar SOD pada luka bakar derajat II.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memperkaya pengetahuan ilmiah mengenai efek sinergis dari gel kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) dalam meredakan inflamasi pada luka bakar. Hasil penelitian ini juga diharapkan dapat menjadi dasar pengembangan lebih lanjut dalam bidang cosmeceutical dan terapi luka bakar.

1.4.2. Manfaat Praktis

Secara praktis, hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai referensi dalam pemanfaatan bahan alam sebagai alternatif terapi topikal yang lebih aman, efektif, dan terjangkau untuk luka bakar derajat II. Formulasi gel kombinasi ini berpotensi dikembangkan sebagai produk fitofarmaka dalam bidang klinis maupun industri kesehatan masyarakat.

1.5. Originalitas Penelitian

Penelitian mengenai penyembuhan luka telah banyak berfokus pada pemanfaatan bahan alami dengan aktivitas farmakologis yang mendukung regenerasi jaringan, termasuk Aloe vera (*Aloe barbadensis*) dan ekstrak daun sirih (*Piper betle*). Berbagai studi terdahulu telah menunjukkan bahwa Aloe vera memiliki efek antiinflamasi, angiogenik, dan proliferaif, yang berkontribusi pada percepatan penyembuhan luka. Beberapa penelitian melaporkan bahwa penggunaan topikal Aloe vera dapat meningkatkan ketebalan epidermis, menurunkan infiltrasi leukosit, mengurangi angiogenesis yang berlebihan, serta meningkatkan ekspresi limfosit CD4+ yang berperan dalam respons imun adaptif. Sementara itu, ekstrak daun sirih juga terbukti memiliki potensi antiinflamasi dan antioksidan, yang berkontribusi terhadap regulasi respons imun dan percepatan regenerasi jaringan. Kandungan senyawa aktif dalam ekstrak daun sirih, seperti flavonoid, tanin, dan saponin, telah dikaitkan dengan penurunan kadar sitokin proinflamasi, termasuk IL-1 β dan TNF- α , serta peningkatan pertumbuhan jaringan baru melalui stimulasi sintesis kolagen.

Penelitian sebelumnya masih terbatas pada pengujian Aloe vera dan daun sirih secara terpisah, terapi belum banyak kajian yang mengeksplorasi potensi sinergis keduanya dalam satu formulasi. Kombinasi dari kedua ekstrak ini berpotensi menghasilkan efek yang lebih optimal dalam mempercepat penyembuhan luka melalui mekanisme antiinflamasi dan antioksidan yang saling melengkapi. Oleh karena itu, penelitian yang sedang dilakukan memiliki keunikan dan kebaruan dalam mengeksplorasi efektivitas kombinasi ekstrak daun sirih dan

Aloe vera dalam bentuk gel serta mengkaji mekanisme penyembuhan luka melalui parameter Interleukin-6 (IL-6) dan Superoxide Dismutase (SOD).

IL-6 dipilih sebagai salah satu parameter dalam penelitian ini karena memiliki peran ganda dalam penyembuhan luka. Pada fase awal, IL-6 berfungsi sebagai mediator inflamasi akut yang merekrut neutrofil dan sel imun lainnya ke lokasi luka. Namun, pada fase proliferasi dan remodeling, IL-6 juga dapat berperan dalam stimulasi diferensiasi fibroblas dan produksi matriks ekstraseluler, sehingga keberadaannya dalam jumlah optimal sangat penting untuk mendukung proses regenerasi jaringan. Dalam penelitian sebelumnya, kadar IL-6 yang berlebihan telah dikaitkan dengan inflamasi berkepanjangan dan fibrosis, sementara kadar yang terlalu rendah dapat memperlambat proses penyembuhan. Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi apakah kombinasi ekstrak daun sirih dan Aloe vera mampu menyeimbangkan ekspresi IL-6 sehingga mendukung fase inflamasi yang terkendali dan transisi yang lebih cepat ke fase proliferasi.

Parameter Superoxide Dismutase (SOD) digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan dalam penyembuhan luka. Stres oksidatif yang diakibatkan oleh produksi radikal bebas dalam fase inflamasi dapat merusak jaringan dan memperlambat proses penyembuhan. SOD merupakan enzim antioksidan utama yang berperan dalam menetralkan radikal superoksida menjadi hidrogen peroksida, yang kemudian diuraikan menjadi air dan oksigen oleh enzim lain seperti katalase. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa peningkatan aktivitas SOD dapat mempercepat penyembuhan luka dengan mengurangi peradangan, mencegah apoptosis sel fibroblas, dan meningkatkan proliferasi keratinosit serta sintesis

kolagen. Pengukuran kadar SOD pada penelitian ini ditujukan untuk mengevaluasi apakah kombinasi ekstrak daun sirih dan Aloe vera mampu meningkatkan kapasitas antioksidan dalam jaringan luka, sehingga mempercepat regenerasi kulit.

Metode dan sediaan yang digunakan pada penelitian ini juga memiliki keunikan dalam penggunaan formulasi gel sebagai media aplikasi topikal. Sebagian besar penelitian sebelumnya menggunakan bentuk krim atau larutan ekstrak, yang memiliki tingkat absorpsi yang berbeda dengan gel. Gel berbasis ekstrak alami memiliki beberapa keunggulan, seperti daya serap yang lebih baik, kelembapan optimal, serta kestabilan zat aktif yang lebih terjaga, sehingga memungkinkan efek farmakologis yang lebih efektif.

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

No	Nama Peneliti	Judul Penelitian	Metode	Hasil Penelitian
1	Darmawan et al. (2021)	<i>Betel Leaf Extract Efficacy on Wound Healing: A Systematic Review</i>	Review sistematis	Ekstrak daun sirih 3% membantu mengatur inflamasi selama penyembuhan luka, menurunkan IL-1 β , meningkatkan pembentukan kolagen dan aktivitas SOD.
2	Xian et al. (2021)	<i>Aloe-emodin prevents nerve injury and neuroinflammation caused by ischemic stroke</i>	Studi in vivo, model stroke tikus	Aloe-emodin mengurangi stres oksidatif dan inflamasi melalui aktivasi PI3K/AKT/mTOR dan inhibisi NF- κ B, melindungi jaringan dari cedera iskemia.
3	Budiman et al.	<i>Wound-healing test of Piper betle leaf extract and Aloe vera in gel preparation</i>	Uji formulasi gel kombinasi daun sirih dan Aloe vera	Gel dengan <i>Piper betle</i> 3% dan Aloe vera 2% mempercepat penyembuhan luka bakar, regenerasi kulit, dan menurunkan peradangan.

4	Suharto et al. (2021)	<i>Betel Leaf Extract's Effect on The Healing Process of Incision Wounds in Rats</i>	Eksperimen in vivo pada tikus, uji Kruskal-Wallis	Ekstrak daun sirih dosis 20% paling efektif mempercepat penutupan luka insisi, hasil signifikan ($p = 0.000$).
5	Aisiyiah et al. (2021)	<i>Potential of Red Betel Leaves (Piper crocatum) as Anti-inflammatory in Rheumatoid Arthritis</i>	Review laboratorium dan hewan	Kandungan brazilin pada <i>Piper crocatum</i> menekan ekspresi TNF- α dan aktivitas NF- κ B, memberikan efek antiinflamasi signifikan.
6	Erna et al. (2022)	<i>The Effect of Aloe Vera Topical Gel Extraction on TGF-β1 Expression in Burn Eyelid Rats Model</i>	Model luka bakar tikus, Aloe topikal vera	Peningkatan ekspresi TGF- β 1 secara signifikan, Aloe tertinggi pada dosis 40%, mendukung angiogenesis dan regenerasi jaringan luka.
7	Suharto et al. (2021) (ulang)	<i>Betel Leaf Extract's Effect on The Healing Process of Incision Wounds in Rats</i>	Replikasi eksperimental pada tikus	Konsentrasi 20% menunjukkan efektivitas terbaik dalam penyembuhan luka insisi pada tikus, signifikan antar kelompok.
8	Prakoso & Kurniasih (2022)	<i>The Effects of Aloe Vera Cream on CD4+ and CD8+ Lymphocytes in Skin Wound Healing</i>	Aloe Krim vera 1% dan 2% pada model luka tikus	Aloe vera menurunkan infiltrasi leukosit, meningkatkan ketebalan epidermis dan angiogenesis, mempercepat proses penyembuhan luka.

Aspek kombinasi ekstrak, mekanisme inflamasi dan antioksidan, serta sediaan farmasi yang digunakan, penelitian ini memiliki kebaruan ilmiah yang signifikan dibandingkan dengan studi terdahulu. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi baru dalam bidang farmakologi dan dermatologi, khususnya dalam pengembangan agen penyembuhan luka berbasis bahan alami. Jika kombinasi ekstrak daun sirih dan Aloe vera terbukti efektif dalam mengendalikan inflamasi (melalui IL-6) dan meningkatkan aktivitas antioksidan

(melalui SOD), maka formulasi ini berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai alternatif terapi luka yang lebih aman, alami, dan efektif.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Reactive Oxygen Species (ROS)*

Reactive Oxygen Species (ROS) merupakan molekul reaktif yang terbentuk sebagai produk sampingan dari metabolisme oksigen. ROS meliputi berbagai jenis radikal bebas, antara lain anion superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan radikal hidroksil ($OH\bullet$). ROS sering dihubungkan dengan kerusakan sel, pada kadar rendah, molekul-molekul ini memiliki peran penting dalam sinyal seluler dan regulasi biologis seperti apoptosis dan proliferasi. Dalam jumlah terkendali, ROS berfungsi sebagai mediator dalam komunikasi antar sel dan membantu dalam proses adaptasi sel terhadap perubahan lingkungan ⁶.

ROS dapat terbentuk melalui proses endogen dan eksogen. Sumber endogen utama ROS adalah mitokondria, di mana radikal superoksida terbentuk selama rantai transport elektron. Selama rantai transport elektron, yang merupakan bagian dari proses fosforilasi oksidatif, elektron dapat bocor dan membentuk radikal superoksida. Proses ini terjadi pada saat produksi adenosin trifosfat (ATP), molekul yang menyediakan energi bagi sel. Walaupun sebagian besar superoksida dinetralkan oleh enzim superoxide dismutase (SOD) menjadi hidrogen peroksida, kelebihan ROS dapat menimbulkan kerusakan oksidatif jika tidak segera ditangani. Reactive Oxygen ROS juga dapat dihasilkan dari berbagai sumber eksogen yang secara signifikan meningkatkan produksi radikal bebas seperti paparan sinar ultraviolet (UV), polusi udara, bahan kimia berbahaya, radiasi ionisasi, trauma mekanik, serta paparan panas berlebih⁷.

2.2. Interleukin (IL-6)

Interleukin-6 (IL-6) merupakan sitokin proinflamasi yang berperan penting dalam mengatur respons imun, khususnya pada fase inflamasi. Molekul ini diproduksi oleh berbagai jenis sel, seperti makrofag, fibroblas, dan sel epitel. Peningkatan kadar IL-6 terjadi sebagai respons terhadap cedera atau infeksi, dan kondisi ini dapat memperburuk proses inflamasi, misalnya pada luka bakar atau penyakit inflamasi kronis. IL-6 mengaktifkan jalur pensinyalan yang memperkuat peradangan, merangsang pelepasan sitokin lain, serta meningkatkan produksi protein fase akut yang berpotensi merusak jaringan. Dalam proses penyembuhan luka, IL-6 memiliki peran penting karena dapat memperburuk inflamasi dan menghambat regenerasi jaringan apabila kadarnya tidak terkontrol. Oleh karena itu, pengendalian kadar IL-6 diperlukan untuk mempercepat pemulihan luka sekaligus mencegah komplikasi lebih lanjut, seperti infeksi dan kerusakan jaringan paru⁸.

IL-6 diproduksi sebagai respons terhadap berbagai sinyal, seperti infeksi, cedera, atau stres oksidatif. Sel-sel yang menghasilkan IL-6 termasuk makrofag, sel dendritik, fibroblas, serta sel-sel epitel yang berada di daerah yang mengalami cedera atau peradangan. Peningkatan kadar IL-6 berfungsi sebagai indikator adanya peradangan dalam tubuh dan berperan dalam mengaktifasi sistem imun dengan merangsang produksi antibodi serta meningkatkan proliferasi sel B dan T. Selain itu, IL-6 juga mendorong produksi protein fase akut seperti C-reactive protein (CRP), fibrinogen, dan serum amyloid A (SAA), yang berperan dalam memperburuk inflamasi dan berpotensi merusak jaringan⁸.

Interleukin-6 (IL-6) berperan penting dalam proses penyembuhan luka. Pada tahap awal, IL-6 merangsang infiltrasi sel-sel imun, seperti neutrofil dan makrofag, ke area cedera untuk membersihkan patogen serta jaringan yang rusak. Namun, apabila kadar IL-6 tidak terkendali, respons inflamasi yang berlebihan dapat memperburuk kondisi luka dengan memicu kerusakan jaringan lanjutan, memperlambat regenerasi, dan meningkatkan risiko terbentuknya jaringan parut berlebih. Selain itu, IL-6 juga berperan dalam menjaga keseimbangan antara respons proinflamasi dan antiinflamasi di dalam tubuh. Pada beberapa kondisi, IL-6 berperan dalam transisi antara inflamasi akut dan kronis, dengan meningkatkan ekspresi molekul adhesi sel dan menstimulasi reaksi tubuh terhadap infeksi. Namun, pada penyakit inflamasi kronis atau autoimun, kadar IL-6 yang berlebihan dapat memperburuk peradangan dan memicu kerusakan jaringan lebih lanjut. Misalnya, pada penyakit rheumatoid arthritis, IL-6 berkontribusi pada kehancuran sendi dengan meningkatkan produksi sitokin inflamasi lain dan merangsang aktivitas sel T dan sel B yang merusak jaringan ⁸.

Pengendalian IL-6 dapat menjadi target terapi penting dalam berbagai kondisi medis, termasuk kanker, penyakit inflamasi kronis, dan luka bakar. Penghambatan IL-6 menggunakan antibodi monoklonal, seperti tocilizumab, telah terbukti efektif dalam mengurangi peradangan dan memperbaiki kondisi pasien yang menderita rheumatoid arthritis dan penyakit autoimun lainnya. Terapi ini berfokus pada pemblokiran interaksi IL-6 dengan reseptornya, sehingga mengurangi efek buruk peradangan yang disebabkan oleh sitokin ini ⁸.

2.2.1. Mekanisme IL-6

Interleukin-6 (IL-6) merupakan sitokin proinflamasi yang berperan penting dalam menilai tingkat peradangan, khususnya pada sel endotel pembuluh darah. Sitokin ini bersifat pleiotropik, artinya memiliki berbagai fungsi biologis, termasuk mengatur pertumbuhan sel, memediasi interaksi antar sel, serta menstimulasi sistem kekebalan tubuh, baik spesifik maupun nonspesifik. IL-6 diproduksi dan disekresikan oleh berbagai jenis sel, seperti sel T, makrofag, osteoblas, sel endotel, dan sel otot polos, untuk merangsang respons imun terhadap infeksi atau cedera. Selain itu, IL-6 juga berperan dalam sejumlah proses seluler lain, termasuk regulasi metabolisme, pengaruh terhadap fungsi trombosit, serta pengaturan faktor koagulasi darah⁹.

Kadar normal serum interleukin-6 (IL-6) adalah < 4 pg/mL. Jika kadar IL-6 dalam serum melebihi 4 pg/mL, maka dinyatakan mengalami peningkatan. Peningkatan kadar IL-6 menunjukkan adanya proses inflamasi¹⁰.

2.2.2. Mekanisme Aktivasi IL-6 pada kondisi luka bakar

IL-6 (Interleukin-6) adalah sitokin pro-inflamasi yang berperan penting dalam respons imun tubuh, terutama dalam fase inflamasi akut akibat cedera, termasuk luka bakar. Setelah terjadinya kerusakan jaringan, IL-6 membantu memediasi transisi dari fase inflamasi menuju fase proliferasi dan reparatif dalam proses penyembuhan luka. IL-6 bekerja dengan cara merangsang produksi sel-sel imun dan memfasilitasi pembentukan protein fase akut yang dibutuhkan untuk melawan infeksi dan mempercepat perbaikan jaringan. Namun, jika ekspresi IL-6 berlebihan, hal ini dapat menyebabkan

disfungsi inflamasi, memperlambat penyembuhan, dan berkontribusi pada pembentukan luka kronis atau fibrosis. Oleh karena itu, pengendalian kadar IL-6 sangat penting untuk menjaga keseimbangan antara inflamasi yang dibutuhkan dan mencegah peradangan yang berlebihan yang dapat merusak jaringan lebih lanjut ¹¹.

Superoxide Dismutase (SOD) merupakan enzim antioksidan utama yang berfungsi mengurangi kerusakan oksidatif selama proses peradangan. Enzim ini mengkatalisis perubahan radikal bebas superoksida menjadi oksigen dan hidrogen peroksida, yang selanjutnya diuraikan oleh enzim lain, seperti katalase. Pada kondisi luka bakar, SOD berperan dalam menekan stres oksidatif akibat inflamasi yang berpotensi merusak sel-sel penting dalam regenerasi jaringan. Peningkatan aktivitas SOD dapat melindungi sel-sel fibroblas dan sel endotel dari kerusakan oksidatif, mempercepat penyembuhan luka, serta mendukung fase proliferasi dengan meningkatkan angiogenesis, yang penting untuk pembentukan pembuluh darah baru di area yang terluka ¹¹.

Pada luka bakar derajat 2, yang melibatkan kerusakan pada lapisan epidermis dan dermis, inflamasi berperan penting dalam memicu fase penyembuhan awal. IL-6 berfungsi memulai dan mengatur respon peradangan, namun jika ekspresinya tidak terkontrol, dapat memperburuk kerusakan jaringan. Di sisi lain, SOD mengurangi dampak negatif dari stres oksidatif, melindungi jaringan sehat, dan mendukung regenerasi dengan meningkatkan proliferasi sel serta pembentukan pembuluh darah baru. Keduanya, IL-6 dan SOD, memiliki peran yang saling melengkapi dalam penyembuhan luka bakar

derajat 2. IL-6 mengatur fase inflamasi, sementara SOD membantu mengurangi kerusakan oksidatif dan mempercepat pemulihan jaringan yang terluka ¹¹.

2.2.2.1. Induksi IL-6 dan Aktivasi NF- κ B

Kerusakan jaringan akibat luka bakar memicu pelepasan molekul sinyal bahaya seperti Damage-Associated Molecular Patterns (DAMPs) dan Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMPs), yang diidentifikasi oleh reseptor seperti Toll-like Receptors (TLRs). Aktivasi TLR ini merangsang jalur transkripsi NF- κ B, yang meningkatkan produksi IL-6 di makrofag, fibroblas, dan sel-sel imun lainnya ¹².

2.2.2.2. Jalur Aktivasi Reseptor IL-6 dan Kompleks gp130

IL-6 menjalankan fungsinya melalui pengikatan pada reseptor spesifiknya, IL-6R, yang terdapat di membran sel atau dalam bentuk larut di plasma. Setelah IL-6 berikatan dengan IL-6R, kompleks ini bergabung dengan gp130 dan mengaktifkan berbagai jalur pensinyalan intraseluler. Jalur JAK/STAT3 merupakan jalur utama yang diaktifkan, di mana Janus Kinase (JAK) memicu fosforilasi STAT3, yang kemudian berpindah ke nukleus untuk menginduksi ekspresi gen pro-inflamasi dan anti-apoptosis, memastikan kelangsungan hidup sel imun dan mendukung proliferasi sel selama inflamasi. Selain itu, aktivasi jalur MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) mengatur ekspresi protein pro-inflamasi dan memfasilitasi migrasi fibroblas serta sel epitel, membantu perbaikan dan pembentukan jaringan baru di area

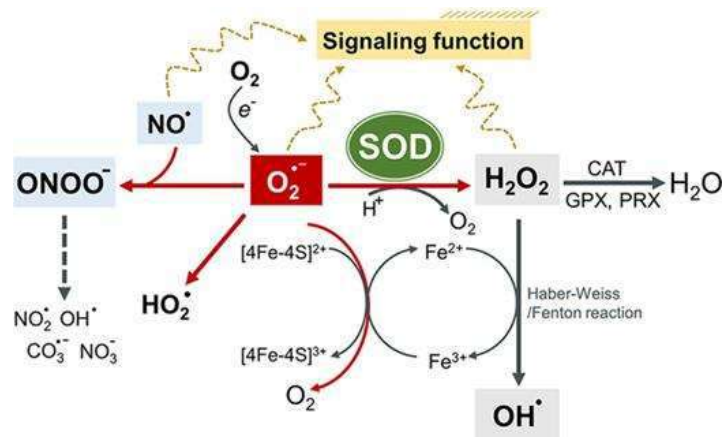
luka bakar. Jalur PI3K/Akt berperan dalam mendukung kelangsungan hidup sel dan angiogenesis dengan mengurangi kerusakan jaringan akibat inflamasi berlebih. Jalur ini memperkuat proses penyembuhan luka dengan meningkatkan aktivitas fibroblas dan membentuk pembuluh darah baru di area luka, mempercepat proses regenerasi jaringan ¹¹.

2.2.3. Alat ukur *interleukin-6*

Pengukuran kadar *interleukin-6* (IL-6) dapat dilakukan menggunakan metode *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), dengan nilai normal kurang dari 11 pg/mL. ELISA merupakan teknik biokimia yang umum digunakan dalam bidang imunologi untuk mendeteksi keberadaan antibodi maupun antigen.

2.3. Superoxide Dismutase (SOD)

Superoxide dismutase (SOD) merupakan enzim universal yang terdapat pada organisme yang hidup di lingkungan beroksigen. Enzim ini berfungsi mengkatalisis perubahan superoksida (O_2^-) menjadi oksigen (O_2) dan hidrogen peroksida (H_2O_2), yang selanjutnya dapat didetoksifikasi oleh katalase atau *glutathione peroxidase*. Superoksida sendiri dapat terbentuk sebagai produk spesifik dari enzim pensinyalan maupun sebagai produk sampingan dari berbagai proses metabolik, termasuk respirasi mitokondria ¹³.



Gambar 2.1 Reaksi superoxide anion ¹³.

SOD berperan dalam mengontrol kadar ROS dan reactive nitrogen species (RNS), membatasi toksisitas potensial molekul-molekul ini, sekaligus mengatur berbagai fungsi seluler yang bergantung pada sinyal dari ROS. Dalam konteks fisiologi, ROS tidak hanya bersifat merusak, tetapi juga bertindak sebagai molekul sinyal yang mempengaruhi proses seperti proliferasi, apoptosis, dan respons imun. Namun, untuk menjaga keseimbangan antara fungsi protektif dan sinyal, aktivitas SOD harus terdistribusi dengan baik di berbagai kompartemen sel dan subseluler.

Superoxide dismutase (SOD) adalah enzim antioksidan yang berperan dalam mengurangi stres oksidatif di dalam tubuh. Enzim ini mengkatalisis konversi radikal bebas superoksida ($O_2^{\cdot-}$) menjadi oksigen dan hidrogen peroksida, yang selanjutnya diuraikan oleh enzim lain. Aktivitas SOD yang optimal sangat penting dalam proses penyembuhan luka karena berfungsi melindungi sel dan jaringan dari kerusakan akibat radikal bebas yang terbentuk selama fase inflamasi. Tingginya tingkat stres oksidatif dapat memperlambat penyembuhan luka dengan merusak sel-sel yang berperan dalam regenerasi jaringan. Peningkatan aktivitas SOD membantu

mengurangi kerusakan oksidatif, mempercepat regenerasi sel, dan mendukung fase proliferasi dalam penyembuhan luka, sehingga mempercepat proses penyembuhan secara keseluruhan¹⁴.

Terdapat beberapa jenis SOD yang ditemukan di dalam tubuh, masing-masing memiliki lokasi dan fungsi yang berbeda. SOD1, yang mengandung tembaga dan seng (CuZn-SOD), terdapat di sitoplasma sel dan berfungsi melindungi sel dari kerusakan oksidatif. SOD2 (Mn-SOD) ditemukan di dalam mitokondria, bagian sel yang bertanggung jawab untuk produksi energi, dan berperan penting dalam mengatasi stres oksidatif yang terjadi di mitokondria. SOD3 (EC-SOD) berada di ruang ekstraseluler dan berfungsi melindungi jaringan dari kerusakan akibat radikal bebas yang dihasilkan selama proses peradangan. Peningkatan aktivitas SOD berperan besar dalam penyembuhan luka. Pada saat luka terbentuk, peradangan memicu produksi radikal bebas dalam jumlah besar. Stres oksidatif yang berlebihan dapat memperlambat penyembuhan dengan merusak sel-sel yang berperan dalam regenerasi jaringan, seperti fibroblas dan sel endotel. Peningkatan aktivitas SOD membantu melindungi sel-sel ini dari kerusakan, mempercepat regenerasi jaringan, dan mendukung angiogenesis, yang penting untuk pembentukan pembuluh darah baru yang menyediakan oksigen dan nutrisi untuk jaringan yang terluka¹⁴.

SOD juga berperan dalam mengatur respons imun tubuh. Aktivitas SOD yang tinggi dapat mengurangi peradangan yang disebabkan oleh stres oksidatif, yang sering kali terjadi pada kondisi inflamasi kronis seperti arthritis dan penyakit kardiovaskular. Dalam hal ini, SOD membantu mengurangi kerusakan jaringan lebih lanjut dan mempercepat pemulihan tubuh setelah cedera atau penyakit.

Dengan mengurangi tingkat stres oksidatif, SOD berkontribusi pada pengurangan inflamasi yang berlebihan dan memperbaiki keseimbangan antara respon pro-inflamasi dan anti-inflamasi. SOD memainkan peran yang sangat penting dalam melindungi tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas dan membantu dalam proses penyembuhan luka. Peningkatan aktivitas SOD tidak hanya mendukung regenerasi jaringan dan mempercepat penyembuhan luka, tetapi juga berpotensi menjadi terapi yang efektif untuk mengelola berbagai kondisi medis yang terkait dengan stres oksidatif, seperti diabetes, penyakit jantung, dan kondisi neurodegeneratif. Penelitian terus dilakukan untuk memahami bagaimana peningkatan aktivitas SOD bisa digunakan sebagai bagian dari terapi untuk memperbaiki proses pemulihan dan pengelolaan penyakit inflamasi¹⁴.

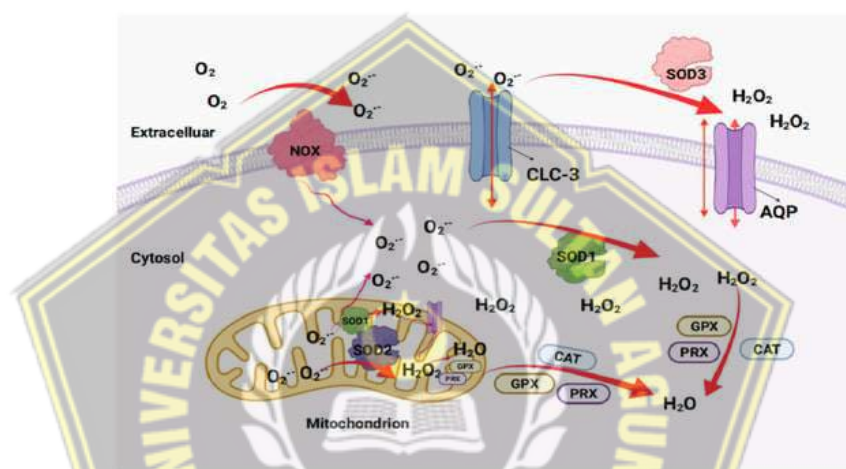
Sitokin pro-inflamasi yang dikendalikan pada luka bakar tidak hanya mengurangi komplikasi seperti infeksi dan jaringan parut, tetapi juga mempercepat proses regenerasi jaringan. Pendekatan ini sangat menjanjikan sebagai bagian dari terapi modern yang lebih efektif untuk manajemen luka bakar yang kompleks.

2.3.1. Mekanisme Superoxide Dismutase (SOD)

SOD adalah enzim penting dalam sistem pertahanan tubuh melawan stres oksidatif. Enzim ini berfungsi dengan mengkatalisis dismutasi superoksida (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2). Superoksida adalah produk sampingan dari respirasi sel dan metabolisme energi yang dapat merusak biomolekul seperti DNA, protein, dan lipid. Dengan mengubah superoksida menjadi molekul yang lebih stabil, SOD

membantu mencegah akumulasi radikal bebas berbahaya yang dapat memicu stres oksidatif dan peradangan kronis¹⁵.

Terdapat tiga jenis utama SOD yang berbeda dalam lokasi dan kofaktornya: SOD1 (terletak di sitoplasma dan intermembran mitokondria), SOD2 (berada di matriks mitokondria), dan SOD3 (berada di ruang ekstraseluler).



Gambar 2.2 Reaksi superoxide SOD1, SOD2 dan SOD3¹⁶.

Ketiga isoenzim SOD bekerja secara sinergis untuk menjaga keseimbangan ROS di seluruh kompartemen seluler. SOD2 bertanggung jawab atas detoksifikasi ROS di mitokondria, sedangkan SOD1 menangani superoksida dalam sitoplasma dan ruang antar membran. SOD3, pada sisi lain, melindungi jaringan dan cairan tubuh dari kerusakan oksidatif¹⁷.

2.3.1.1. SOD1 (Sitoplasma dan Intermembran Mitokondria)

SOD1, juga dikenal sebagai Cu/Zn-SOD, terletak di sitoplasma dan dalam ruang antar membran mitokondria. Aktivitas SOD1 sangat bergantung pada tembaga (Cu) dan seng (Zn) sebagai kofaktor. Tembaga

berperan dalam katalisis redoks, sedangkan seng memberikan stabilitas struktural. SOD1 diaktifkan sebagai respons terhadap peningkatan stres oksidatif dalam sitoplasma, seperti yang terjadi dalam kondisi inflamasi atau paparan senyawa beracun. Mutasi pada gen SOD1 telah dihubungkan dengan penyakit neurodegeneratif, seperti Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS), karena kegagalannya dalam mengelola kadar superoksida¹⁶.

2.3.1.2. SOD2 (Mitokondria)

SOD2, atau Mn-SOD, ditemukan dalam matriks mitokondria dan sangat penting dalam menjaga fungsi mitokondria. Enzim ini menggunakan mangan (Mn) sebagai kofaktor untuk mengkatalisis konversi superoksida menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2). Aktivasi SOD2 terutama terjadi saat sel mengalami hipoksia atau peningkatan produksi superoksida akibat gangguan respirasi mitokondria. SOD2 memainkan peran kunci dalam mencegah kerusakan oksidatif pada DNA mitokondria dan protein, sehingga sangat penting dalam menjaga fungsi energi seluler dan mengurangi risiko apoptosis serta nekrosis¹⁶.

2.3.1.3. SOD3 (Ekstraseluler)

SOD3 adalah bentuk SOD yang ditemukan di ruang ekstraseluler, terutama pada jaringan ikat dan cairan tubuh seperti plasma. Enzim ini membantu menjaga homeostasis redoks di lingkungan ekstraseluler dengan mengurai superoksida yang berasal dari aktivitas inflamasi atau stres oksidatif di luar sel. Aktivasi SOD3 diperlukan untuk

melindungi endotelium pembuluh darah dan jaringan ikat dari kerusakan oksidatif. SOD3 juga berperan dalam mengatur proses inflamasi melalui modulasi ROS dalam aliran darah, yang relevan untuk kondisi inflamasi kronis¹⁶.

2.4. Jalur Molekuler PI3K/AKT/NF- κ B dalam Efek Antiinflamasi dan Antioksidan Bahan Aktif

Jalur PI3K/AKT/NF- κ B merupakan jalur pensinyalan yang krusial dalam berbagai respons seluler, termasuk regulasi inflamasi, proliferasi sel, dan pengelolaan stres oksidatif. Aktivasi PI3K (Phosphoinositide 3-Kinase) mengarah pada fosforilasi AKT (Protein kinase B), yang memainkan peran penting dalam mengatur kelangsungan hidup sel dan respons terhadap stres oksidatif. AKT berfungsi untuk mengatur sejumlah proses biologis, termasuk penghambatan apoptosis dan stimulasi proliferasi sel, serta modulasinya terhadap produksi sitokin pro-inflamasi seperti IL-6. IL-6 merupakan salah satu sitokin utama yang terlibat dalam respon inflamasi, baik pada kondisi cedera maupun dalam penyakit inflamasi kronis. Ketika ekspresi IL-6 tidak terkendali, hal ini dapat memperburuk peradangan dan menghambat proses penyembuhan luka¹⁸.

Aktivasi NF- κ B, yang merupakan faktor transkripsi utama dalam proses inflamasi, seringkali dipicu oleh jalur PI3K/AKT. NF- κ B mengatur ekspresi gen yang terlibat dalam peradangan dan produksi sitokin, termasuk IL-6. Proses ini mengarah pada peningkatan kadar IL-6 dalam tubuh, yang memicu peradangan lebih lanjut. Ketika jalur NF- κ B teraktivasi secara berlebihan, produksi IL-6 meningkat, yang pada gilirannya memperburuk kerusakan jaringan dan

memperlambat proses penyembuhan luka. Dengan demikian, pengendalian jalur PI3K/AKT/NF- κ B sangat penting untuk menjaga keseimbangan antara respons inflamasi yang dibutuhkan dan pencegahan inflamasi berlebihan yang dapat menimbulkan kerusakan jaringan lebih lanjut¹⁹.

Selain peranannya dalam pengaturan inflamasi, jalur PI3K/AKT juga berhubungan erat dengan regulasi aktivitas SOD, enzim antioksidan utama dalam tubuh. SOD berfungsi untuk mengurangi kerusakan oksidatif yang dihasilkan oleh radikal bebas seperti superoksida (O_2^-) dengan mengubahnya menjadi oksigen dan hidrogen peroksida, yang kemudian dapat diurai lebih lanjut oleh enzim lain seperti katalase. Aktivasi jalur PI3K/AKT berpotensi merangsang ekspresi SOD, yang membantu mengurangi kerusakan yang disebabkan oleh ROS. ROS yang berlebihan dapat memperburuk inflamasi dan stres oksidatif dalam tubuh, yang berkontribusi pada kerusakan jaringan lebih lanjut. Oleh karena itu, peran SOD dalam mengurangi stres oksidatif sangat penting, terutama dalam fase penyembuhan luka, di mana keseimbangan antara inflamasi dan perbaikan jaringan perlu dijaga dengan baik²⁰.

Dalam konteks penyembuhan luka, bahan aktif dari tanaman obat, seperti Aloe vera dan daun sirih (*Piper betle*), dapat memainkan peran penting dalam memodulasi jalur PI3K/AKT/NF- κ B. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam kedua tanaman ini, seperti flavonoid pada daun sirih dan acemannan pada Aloe vera, diketahui dapat mengurangi produksi ROS dan menghambat aktivasi NF- κ B. Penurunan aktivasi NF- κ B ini berkontribusi pada pengurangan produksi IL-6, yang berfungsi untuk menurunkan inflamasi berlebihan dan mempercepat proses

penyembuhan. Selain itu, senyawa-senyawa ini juga dapat merangsang jalur PI3K/AKT, yang pada gilirannya mendukung proliferasi sel, regenerasi jaringan, dan pembentukan pembuluh darah baru yang diperlukan dalam proses penyembuhan luka²¹.

Bahan aktif dapat berfungsi sebagai agen terapeutik yang efektif dalam mempercepat penyembuhan luka dan mengurangi risiko pembentukan jaringan parut dengan mengatur kedua elemen ini yaitu IL-6 yang mengendalikan inflamasi dan SOD yang berperan dalam pengurangan stres oksidatif. Penurunan inflamasi dan stres oksidatif yang berlebihan dapat mengurangi kerusakan jaringan yang sering terjadi pada luka bakar atau cedera lainnya, serta mempercepat regenerasi jaringan. Oleh karena itu, pemahaman lebih lanjut mengenai modulasi jalur PI3K/AKT/NF- κ B melalui bahan aktif dari tanaman obat dapat memberikan kontribusi penting dalam pengelolaan kondisi inflamasi dan mempercepat proses pemulihan jaringan²².

2.5. Faktor – faktor yang mempengaruhi kadar Interleukin-6 dan SOD (Superoxide Dismutase)

2.5.1. Usia

Kadar *interleukin-6* (IL-6) cenderung meningkat seiring bertambahnya usia. Pada kelompok usia 65–74 tahun, kadar IL-6 rata-rata tercatat sebesar 1,4 pg/mL pada laki-laki dan 1,1 pg/mL pada perempuan. Sementara itu, pada usia di atas 85 tahun, kadar rata-rata IL-6 meningkat menjadi 3,5 pg/mL pada laki-laki dan 2,1 pg/mL pada perempuan. Peningkatan kadar IL-6 yang terkait usia diakibatkan oleh stimulasi produksi

IL-6 yang terkait dengan peningkatan jumlah radikal bebas didalam tubuh. Penyebab lainnya adalah gangguan regulasi normal pada ekspresi gen yang mengatur produksi IL-6 ¹⁰.

Kadar *interleukin-6* (IL-6) cenderung meningkat seiring bertambahnya usia. Pada kelompok usia 65–74 tahun, kadar IL-6 rata-rata tercatat sebesar 1,4 pg/mL pada pria dan 1,1 pg/mL pada wanita. Sementara itu, pada individu berusia di atas 85 tahun, kadar IL-6 meningkat hingga 3,5 pg/mL pada pria dan 2,1 pg/mL pada wanita. Peningkatan kadar IL-6 yang terkait dengan penuaan ini terutama dipengaruhi oleh stimulasi produksi IL-6 akibat bertambahnya jumlah radikal bebas dalam tubuh. Selain itu, gangguan dalam regulasi ekspresi gen yang mengatur produksi IL-6 juga berkontribusi terhadap tingginya kadar sitokin tersebut pada lansia¹⁰.

Pada usia lanjut, peningkatan IL-6 dapat berperan dalam proses peradangan kronis, yang sering kali dikaitkan dengan berbagai penyakit terkait usia, seperti osteoarthritis, penyakit jantung, dan gangguan metabolik. Oleh karena itu, pengelolaan kadar IL-6 pada lansia sangat penting untuk mengurangi risiko peradangan kronis yang dapat memperburuk kondisi kesehatan mereka ¹⁰.

Seiring dengan pertambahan usia, aktivitas enzim *Superoxide Dismutase* (SOD) cenderung menurun sehingga memicu peningkatan stres oksidatif. Kondisi stres oksidatif akibat akumulasi radikal bebas ini dapat memperparah inflamasi serta menghambat proses penyembuhan luka. Dengan berkurangnya aktivitas SOD, tubuh menjadi kurang mampu

mengatasi kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas, yang berkontribusi pada peningkatan peradangan dan kerusakan jaringan seiring bertambahnya usia. Dengan demikian, menjaga keseimbangan antara IL-6 dan SOD dalam tubuh sangat penting untuk meminimalkan dampak negatif peradangan dan stres oksidatif, sekaligus mendukung proses penyembuhan yang lebih optimal pada individu lanjut usia¹⁰.

2.5.2. Merokok

Merokok dapat meningkatkan kadar *interleukin-6* (IL-6) melalui aktivasi leukosit. Sitokin ini berperan penting dalam merangsang sintesis *C-Reactive Protein* (CRP) dan berbagai protein fase akut lain yang diproduksi oleh hati. Peningkatan IL-6 akibat kebiasaan merokok dapat memperparah peradangan tubuh serta berkontribusi terhadap munculnya berbagai penyakit inflamasi kronis. Dibandingkan dengan sitokin lain, IL-6 memiliki peran khas karena sebagian besar beredar dalam aliran darah dan memediasi respons inflamasi sistemik. Di sisi lain, *Superoxide dismutase* (SOD) juga berperan dalam menghadapi peningkatan stres oksidatif yang dipicu oleh merokok. Aktivitas merokok menghasilkan radikal bebas dalam jumlah besar, yang dapat merusak sel tubuh serta memperburuk kondisi inflamasi. SOD berfungsi mengurangi kerusakan oksidatif dengan mengonversi radikal superoksida menjadi oksigen dan hidrogen peroksida, yang kemudian diuraikan lebih lanjut oleh enzim lain. Namun, pada individu perokok, aktivitas SOD sering kali menurun sehingga mengurangi kemampuan tubuh untuk menanggulangi stres oksidatif dan pada akhirnya meningkatkan

kerusakan jaringan¹⁰.

2.5.3. Diabetes Melitus

Interleukin-6 (IL-6) memengaruhi metabolisme glukosa dengan meningkatkan kadar glukosa basal serta mengubah sensitivitas tubuh terhadap insulin. Peningkatan kadar IL-6, terutama dalam kondisi inflamasi, dapat menyebabkan resistensi insulin, yang pada gilirannya mengganggu pengaturan kadar glukosa dalam darah. IL-6 bekerja dengan merangsang hati untuk meningkatkan produksi glukosa (gluconeogenesis) dan menghambat efek insulin yang berfungsi untuk menurunkan kadar glukosa darah. Akibatnya, tubuh menjadi kurang responsif terhadap insulin, yang berkontribusi pada peningkatan kadar glukosa darah dan meningkatkan risiko pengembangan kondisi seperti diabetes tipe 2²³.

Superoxide dismutase (SOD) merupakan enzim antioksidan yang berperan penting dalam menekan stres oksidatif, terutama yang diperburuk oleh peningkatan kadar *interleukin-6* (IL-6). Aktivitas SOD yang optimal dapat melindungi sel-sel pankreas dan jaringan tubuh lain yang berperan dalam metabolisme glukosa dari kerusakan oksidatif. Perlindungan ini membantu menurunkan resistensi insulin serta mendukung pengaturan kadar glukosa yang lebih baik. Namun, pada kondisi peradangan kronis yang ditandai dengan tingginya kadar IL-6, aktivitas SOD sering kali menurun. Hal ini memperburuk gangguan metabolisme glukosa dan berkontribusi terhadap perkembangan diabetes maupun kelainan metabolik lainnya²³.

2.5.4. Penyakit jantung

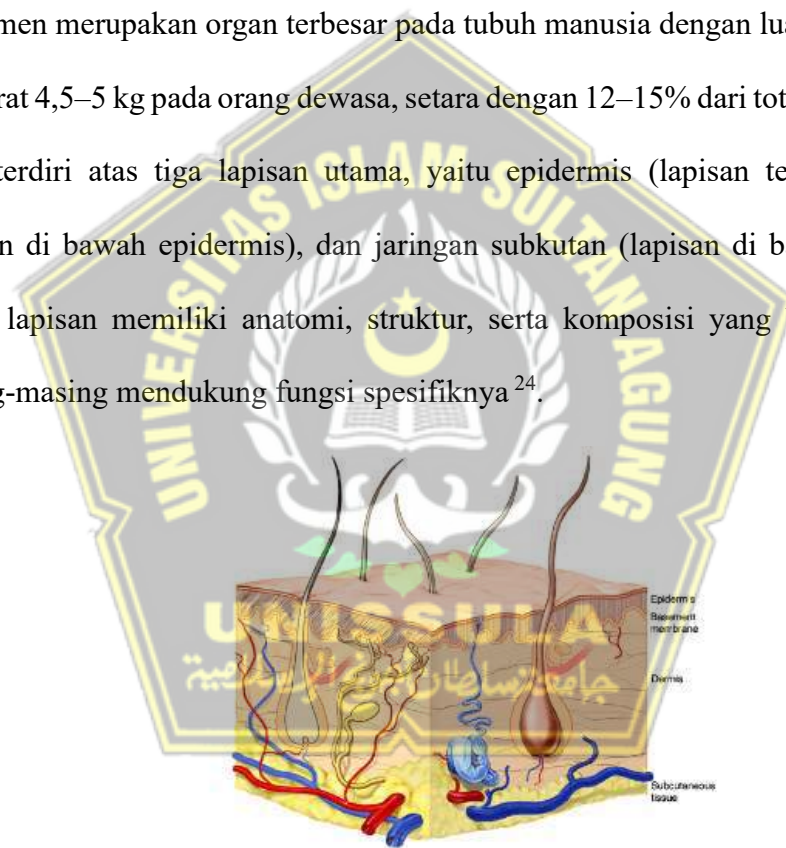
Interleukin-6 (IL-6) berperan penting dalam patogenesis penyakit jantung koroner (PJK) dan memiliki kaitan erat dengan aterosklerosis. Sebagai sitokin proinflamasi, IL-6 memicu respons peradangan yang dapat merusak lapisan endotel pembuluh darah serta memfasilitasi pembentukan plak aterosklerotik. Peningkatan kadar IL-6 dalam tubuh menyebabkan peradangan kronis yang mempercepat perkembangan aterosklerosis melalui akumulasi sel inflamasi dan lipoprotein berbahaya di dinding pembuluh darah. Selain itu, kadar IL-6 yang tinggi juga dikaitkan dengan peningkatan risiko mortalitas pada pasien dengan sindrom koroner akut, seperti infark miokard atau angina tidak stabil, karena memperparah proses inflamasi yang mempersempit pembuluh darah dan mengganggu aliran darah ke jantung²³.

Superoxide dismutase (SOD), sebagai enzim antioksidan, berfungsi untuk mengurangi stres oksidatif yang terjadi dalam tubuh, termasuk pada pembuluh darah yang terkena aterosklerosis. SOD membantu menetralkan radikal bebas superoksida yang diproduksi selama peradangan, melindungi sel-sel endotel dan jaringan jantung dari kerusakan oksidatif. Namun, pada individu dengan kadar IL-6 yang tinggi, stres oksidatif sering meningkat, yang dapat mengurangi efektivitas SOD dan memperburuk kerusakan pembuluh darah. Peningkatan aktivitas SOD dapat membantu melindungi pembuluh darah dan jantung dari kerusakan oksidatif, memperlambat perkembangan aterosklerosis, dan mendukung pemulihan setelah kejadian sindrom koroner akut. Dengan demikian, IL-6 dan SOD memainkan peran

yang saling terkait dalam memengaruhi risiko penyakit jantung koroner, dengan IL-6 yang berkontribusi pada peradangan dan SOD yang berfungsi untuk melindungi tubuh dari kerusakan lebih lanjut ²³.

2.6. Anatomi dan Histologi Kulit

Kulit manusia merupakan organ kompleks berlapis-lapis yang berperan penting dalam melindungi tubuh serta mengatur fungsi fisiologis. Kulit atau sistem integumen merupakan organ terbesar pada tubuh manusia dengan luas sekitar 2 m² dan berat 4,5–5 kg pada orang dewasa, setara dengan 12–15% dari total berat badan. Kulit terdiri atas tiga lapisan utama, yaitu epidermis (lapisan terluar), dermis (lapisan di bawah epidermis), dan jaringan subkutan (lapisan di bawah dermis). Setiap lapisan memiliki anatomi, struktur, serta komposisi yang berbeda, yang masing-masing mendukung fungsi spesifiknya ²⁴.



Gambar 2.3 Struktur kulit (Sumber : dermnetnz.org)

2.6.1. Epidermis

Epidermis bersifat avaskular, yang berarti tidak memiliki pembuluh darah, dan terdiri dari sel-sel skuamosa berlapis keratin yang berfungsi sebagai pelindung kulit. Ketebalan rata-rata epidermis berkisar antara 0,5

hingga 1,5 mm. Kulit tebal terdapat pada area telapak tangan, telapak kaki, dan sidik jari, sedangkan kulit tipis ditemukan di bagian tubuh lainnya. Epidermis pada kulit tipis tersusun atas empat lapisan, sementara pada kulit tebal terdapat lima lapisan, yaitu *stratum corneum*, *stratum lucidum* (khusus kulit tebal), *stratum granulosum*, *stratum spinosum*, dan *stratum basale*. Selain itu, epidermis mengandung berbagai jenis sel, antara lain keratinosit, melanosit, sel Langerhans, dan sel Merkel, yang masing-masing berperan dalam fungsi imunitas maupun sensasi ²⁴.

1. ***Stratum korneum***, lapisan terluar ini terdiri atas sel-sel mati yang telah mengalami penggantian sitoplasma oleh keratin. Sel-sel ini pipih, tidak berinti, dan bertumpuk dalam banyak lapisan, berfungsi sebagai penghalang yang kuat untuk melindungi tubuh dari bahaya eksternal seperti patogen dan iritasi.
2. ***Stratum lusidum*** menunjukkan penurunan jumlah desmosom, sehingga adhesi antar sel-sel dalam lapisan ini melemah. Hal ini menyebabkan sering munculnya celah atau garis yang tampak memisahkan lapisan *stratum korneum* dari lapisan-lapisan di bawahnya pada preparasi histologis.
3. ***Stratum granulosum***, lapisan ini terdiri dari 2 hingga 4 lapis sel gepeng yang mengandung granula basofilik yang kaya akan keratohialin. Granula ini mempersiapkan sel untuk proses keratinisasi lebih lanjut, yang akan berfungsi melindungi lapisan kulit dari kerusakan eksternal.

4. *Stratum spinosum* atau yang sering disebut sebagai lapisan taju, desmosom terlihat berfungsi mengikat sel-sel dengan erat satu sama lain, menciptakan jaringan ikat yang kuat. Seiring dengan peningkatan lapisan, sel-sel tersebut secara bertahap menjadi lebih gepeng, menyesuaikan dengan struktur lapisan atas.
5. *Stratum basal*, aktivitas mitosis sel secara aktif berlangsung, sel-sel baru dihasilkan untuk mendukung proses regenerasi epitel. Proliferasi ini berperan penting dalam pembaharuan lapisan epidermis.

2.6.2. Dermis

Dermis merupakan lapisan kulit yang lebih tebal, mengandung pembuluh darah dan saraf yang berfungsi memberikan nutrisi serta menopang epidermis. Lapisan ini terbagi menjadi dua bagian, yaitu stratum papilaris, yang tipis dan berada di bagian superfisial, serta stratum retikularis, yang lebih dalam. Jaringan ikat longgar pada stratum papilaris terhubung langsung dengan epidermis. Selain itu, dermis mengandung fibroblas yang menghasilkan fibronectin dan asam hialuronat, dua komponen utama matriks ekstraseluler yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka ²⁴.

1. Stratum Papilaris tersusun secara longgar dan ditandai oleh adanya papila dermis dengan jumlah berkisar antara 50 hingga 250 per mm². Papila ini paling banyak ditemukan pada area yang sering mengalami tekanan, seperti telapak kaki. Sebagian besar papila berisi kapiler yang berfungsi menyuplai nutrisi bagi epitel di atasnya, sedangkan sebagian

lainnya mengandung korpuskel Meissner yang berperan sebagai reseptor sensorik untuk mendeteksi rangsangan sentuhan. Selain itu, serat-serat kolagen di bawah epidermis tersusun dengan rapat untuk mendukung integritas struktur kulit.

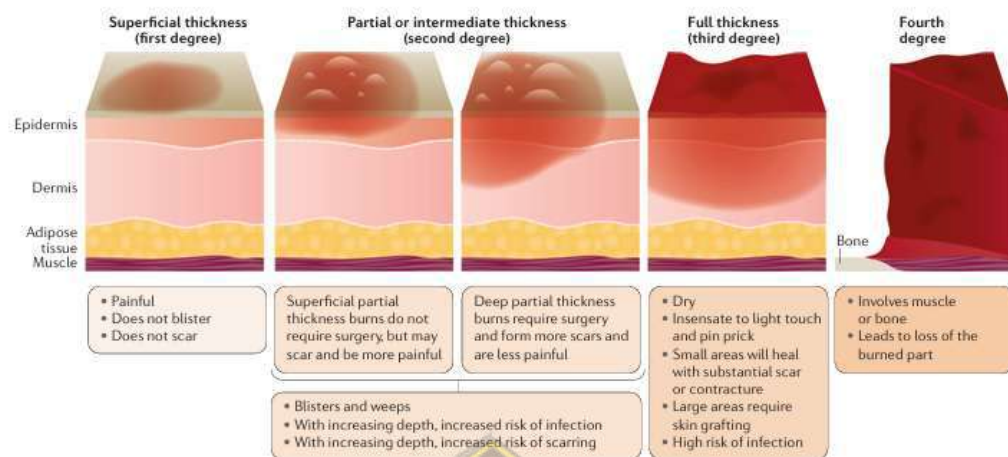
2. Stratum Retikularis merupakan lapisan dermis yang lebih tebal dan terletak lebih dalam dibandingkan dengan stratum papillare. Lapisan ini tersusun atas serat kolagen kasar serta sejumlah kecil serat elastin yang membentuk jaringan ikat padat tidak beraturan. Pada bagian dalam stratum retikularis, jalinan serat menjadi lebih longgar dan diisi oleh jaringan lemak, kelenjar keringat, kelenjar sebacea, serta folikel rambut. Selain itu, serat otot polos dapat ditemukan di area tertentu, seperti di sekitar folikel rambut, skrotum, preputium, dan puting payudara. Pada kulit wajah dan leher, serat otot rangka menembus jaringan ikat dermis sehingga memungkinkan terjadinya ekspresi wajah. Stratum retikularis berhubungan langsung dengan hipodermis atau fascia superfisial yang kaya akan sel lemak, yang berfungsi memberikan dukungan tambahan sekaligus berperan dalam insulasi termal.

2.7. Luka Bakar Derajat II

Pada luka bakar superfisial dengan ketebalan sebagian (derajat kedua, IIA *Burns*), luka ditandai oleh nyeri dan eksudasi cairan yang memerlukan perawatan khusus, meskipun tidak selalu membutuhkan intervensi bedah. Luka bakar dengan ketebalan sebagian yang lebih dalam (derajat kedua yang lebih serius, II *Burns*), nyeri akan berkurang akibat kerusakan parsial pada reseptor nyeri, dengan kondisi

kulit yang lebih kering dan biasanya memerlukan tindakan pembedahan. Luka bakar dengan ketebalan penuh (derajat ketiga) meluas ke seluruh lapisan dermis, dan karena ujung saraf telah rusak, sering kali tidak menimbulkan rasa nyeri. Luka ini memerlukan penanganan bedah dan perlindungan dari infeksi. Luka bakar derajat IV mencakup kerusakan jaringan yang lebih dalam, seperti otot atau tulang, dengan tampilan umumnya berwarna hitam dan sering kali menyebabkan kehilangan bagian tubuh yang terkena luka bakar.

Luka bakar superfisial maupun parsial umumnya dapat sembuh tanpa memerlukan tindakan bedah. Namun, luka bakar yang lebih parah membutuhkan perawatan intensif, termasuk penggunaan balutan antimikroba dan/atau intervensi bedah. Klasifikasi luka bakar dibedakan menjadi ringan dan berat. Luka bakar ringan mencakup kurang dari 10% luas permukaan tubuh total (*Total Body Surface Area*/TBSA) dengan dominasi luka superfisial. Sementara itu, luka bakar berat tidak memiliki definisi yang baku, tetapi secara umum diklasifikasikan sebagai >10% TBSA pada pasien lanjut usia, >20% TBSA pada orang dewasa, dan >30% TBSA pada anak-anak. Selain kerusakan pada kulit, luka bakar juga dapat disertai inhalasi asap atau trauma fisik pada organ lainnya²⁵.



Gambar 2.4 Klasifikasi Luka Bakar²⁵

Kedalaman luka bakar adalah faktor penting dalam menilai kebutuhan perawatan pasien, terutama kebutuhan bedah. Secara umum, semakin dalam luka bakar, semakin besar tantangan untuk mencapai hasil penyembuhan yang baik tanpa bekas luka.

2.8. Fase Penyembuhan Luka Bakar

Penyembuhan luka bakar derajat II berlangsung melalui empat fase yang berurutan namun saling tumpang tindih, yaitu fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodelling. Setiap fase memiliki mekanisme penting yang mendukung regenerasi jaringan serta pemulihan fungsi kulit yang mengalami luka bakar²⁶.

2.8.1. Fase Hemostasis

Fase hemostasis dimulai dalam hitungan jam setelah terjadinya luka bakar dan menjadi langkah awal yang krusial dalam proses penyembuhan. Pada luka bakar derajat II, yang melibatkan kerusakan epidermis dan

sebagian dermis, penghentian perdarahan dan pencegahan kehilangan cairan tubuh dilakukan oleh tubuh melalui beberapa mekanisme.

Tahap awal, vasokonstriksi dilakukan oleh pembuluh darah yang rusak untuk mengurangi aliran darah dan mengontrol perdarahan. Selanjutnya, trombosit diaktifkan dan diarahkan untuk berkumpul di lokasi cedera, sehingga pembentukan trombus atau gumpalan darah dapat dilakukan untuk menyegel luka. Selain menghentikan perdarahan, trombosit juga melepaskan faktor pertumbuhan seperti platelet-derived growth factor (PDGF), yang digunakan untuk merangsang migrasi dan proliferasi fibroblas serta sel-sel epitel. Proses hemostasis ini diselesaikan dalam beberapa jam pertama setelah cedera dan menjadi langkah awal yang mempersiapkan luka untuk memasuki fase inflamasi berikutnya²⁷.

2.8.2. Fase Inflamasi

Fase inflamasi dimulai setelah hemostasis selesai, dengan durasi sekitar 1–3 hari setelah cedera. Tujuan utama dari fase ini adalah pembersihan luka dari mikroorganisme, debris seluler, dan jaringan yang telah mati, yang dilakukan untuk mempersiapkan regenerasi jaringan. Pada luka bakar derajat II, inflamasi melibatkan berbagai sel imun seperti neutrofil dan makrofag²⁷.

Proses inflamasi ini ditandai dengan vasodilatasi, yang dilakukan untuk meningkatkan aliran darah ke area luka melalui pengaruh mediator kimia seperti histamin dan prostaglandin. Selanjutnya, permeabilitas pembuluh darah ditingkatkan sehingga sel-sel imun dapat dimobilisasi

menuju lokasi luka. Neutrofil digunakan untuk melakukan fagositosis terhadap mikroorganisme dan debris seluler, sedangkan makrofag diaktifkan untuk membersihkan sisa-sisa inflamasi dan melepaskan sitokin seperti IL-1 dan TNF- α , yang merangsang proses penyembuhan lebih lanjut. Pembentukan edema juga terjadi akibat peningkatan permeabilitas vaskular, di mana cairan dan protein merembes keluar dari pembuluh darah. Dengan demikian, fase inflamasi diarahkan untuk mempersiapkan area luka menuju fase proliferasi ²⁷.

2.8.3. Fase Proliferasi

Fase proliferasi dilakukan untuk menggantikan jaringan yang rusak dengan jaringan baru yang fungsional. Proses ini dimulai 4 hari setelah cedera dan dapat berlangsung hingga 21 hari, bergantung pada ukuran dan kedalaman luka. Dalam fase ini, pembentukan jaringan granulasi yang kaya akan fibroblas, pembuluh darah baru, dan kolagen terjadi. Fibroblas dimobilisasi untuk mensintesis kolagen, khususnya kolagen tipe III, yang membentuk dasar matriks ekstraseluler. Selain itu, angiogenesis dilakukan melalui stimulasi vascular endothelial growth factor (VEGF) untuk memastikan pasokan oksigen dan nutrisi ke jaringan yang sedang berkembang. Migrasi keratinosit dari tepi luka dilakukan untuk membentuk lapisan epitel baru yang menutup permukaan luka.

Pengendalian stres oksidatif sangat penting untuk mendukung regenerasi jaringan. Aktivitas antioksidan seperti superoksida dismutase (SOD) dan glutathione (GSH) digunakan untuk mengurangi kerusakan

oksidatif pada sel. SOD digunakan untuk mengkonversi radikal bebas superoksida menjadi hidrogen peroksida, sedangkan GSH digunakan untuk melindungi sel-sel fibroblas dan keratinosit selama proses penyembuhan. Oleh karena itu, fase proliferasi diarahkan untuk membentuk jaringan granulasi yang kokoh dan lapisan epitel baru ^{26,27}.

2.8.4. Fase Remodelling

Fase remodelling dilakukan untuk memperkuat dan mematangkan jaringan yang terbentuk selama fase proliferasi. Fase ini berlangsung selama beberapa bulan hingga satu tahun setelah cedera. Dalam fase ini, kolagen tipe III yang terbentuk sebelumnya digantikan oleh kolagen tipe I, yang lebih kuat dan elastis. Penyusunan ulang struktur jaringan dilakukan oleh fibroblas untuk meningkatkan stabilitas dan elastisitas jaringan. Volume jaringan parut secara bertahap dikurangi, meskipun dalam beberapa kasus, jaringan parut hipertrofik atau keloid dapat terbentuk akibat predisposisi genetik atau ketegangan mekanis pada luka. Walaupun jaringan baru sering kali tidak memiliki karakteristik fisik seperti kulit asli, fungsi protektif kulit biasanya dapat dipulihkan ^{26,27}.

2.9. Daun Sirih (*Piper betle*)

Daun sirih (*Piper betle* L.) merupakan tanaman obat yang sangat dikenal dan digunakan secara luas dalam pengobatan tradisional oleh berbagai kelompok etnis di Indonesia. Penelitian ilmiah telah menunjukkan bahwa daun sirih memiliki sejumlah manfaat farmakologis yang signifikan, termasuk aktivitas antibakteri, antijamur, antioksidan, dan antiinflamasi. Di Indonesia, daun sirih kerap digunakan

dalam perawatan kesehatan wanita, khususnya dalam menjaga kesehatan genital, merangsang produksi air susu ibu (ASI), serta perawatan pasca-melahirkan. Selain itu, daun sirih juga dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk mengobati infeksi kulit, luka bakar, dan gangguan pernapasan ²⁸.



Gambar 2.5 Daun Sirih (*Piper betle*)²⁹

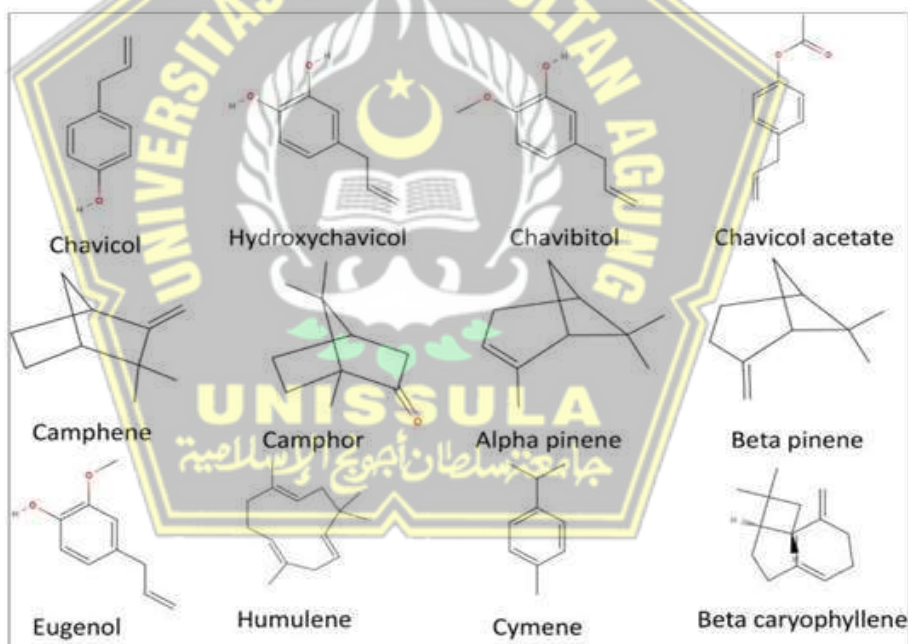
Klasifikasi Daun Sirih (*Piper betle*) :

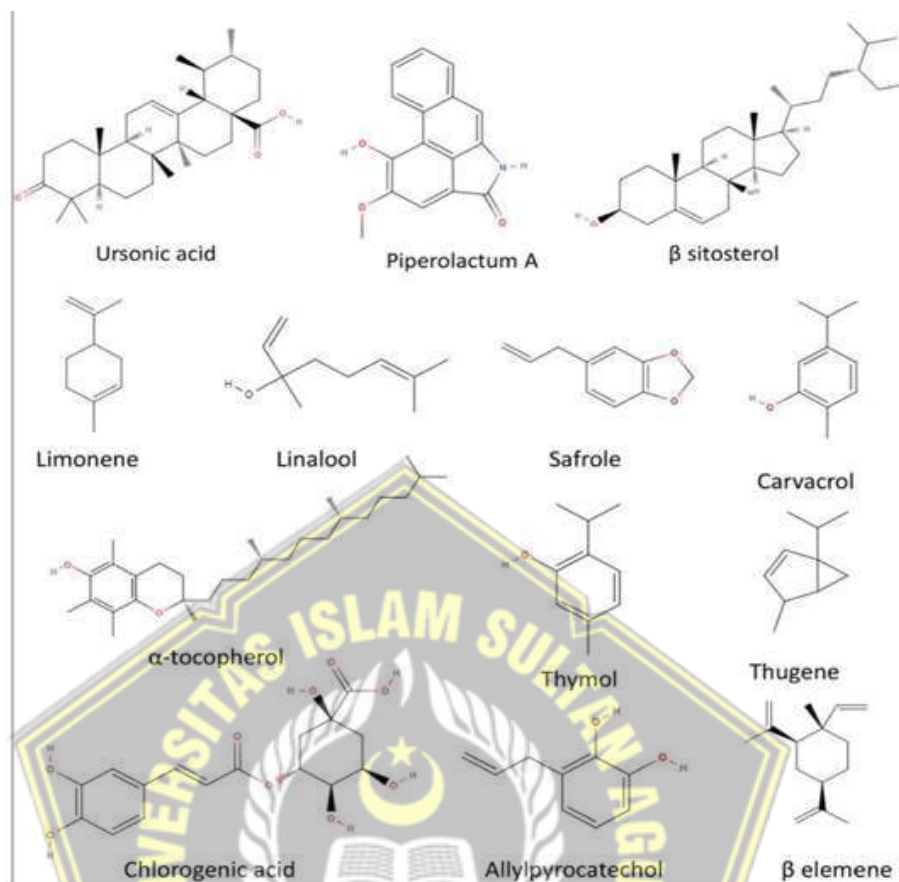
- Kingdom : *Plantae*
- Clade : *Tracheophytes*
- Clade : *Angiosperms*
- Clade : *Magnoliids*
- Order : *Piperales*
- Family : *Piperaceae*
- Genus : *Piper*
- Species : *P. betle*

Selain manfaat tersebut, daun sirih diketahui mengandung sejumlah senyawa bioaktif seperti eugenol, chavicol, hidroksikavikol, dan flavonoid, yang berkontribusi terhadap efek terapeutik tanaman ini. Beberapa penelitian juga mengindikasikan bahwa kombinasi ekstrak daun sirih dengan obat konvensional

dapat meningkatkan efektivitas dalam melawan bakteri dan jamur, terutama yang telah resisten terhadap obat-obatan tradisional ²⁸.

Komponen utama adalah tanin (15-20%) yang memiliki sifat astringen dan antimikroba, serta flavonoid (5-10%) seperti quercetin yang bertindak sebagai antioksidan dan anti-inflamasi, dan minyak atsiri dengan subkomponen meliputi safrole (48.7%), chavibetol acetate (12.5%), allylpyrocate choldiacetate (34.0%), *p*-cymene, 4-terpinol, eugenol, dan β -caryophyllene. Sesquiterpenes, cadinene, caryophyllene, safrole (52.7%), eugenyl acetate (5.8%), allylpyrocatecholdiacetate (15.4%), dan eugenol (6.4%) ²⁹.





Gambar 2.6 Phytochemical daun sirih (*Piper betle*)²⁹

2.10. Aloe vera (*Aloe barbadensis*)

Aloe vera telah lama dikenal sebagai tanaman obat yang banyak digunakan di Indonesia, khususnya dalam perawatan kulit, penanganan gangguan pencernaan, dan pengobatan luka bakar. Berdasarkan berbagai penelitian, Aloe vera mengandung sejumlah senyawa bioaktif seperti acemannan, aloin, aloe-emodin, flavonoid, dan saponin, yang masing-masing memiliki sifat anti-inflamasi, antibakteri, serta penyembuhan luka. Di Indonesia, penggunaan Aloe vera sangat populer dalam produk kosmetik dan obat tradisional. Aplikasi utamanya termasuk pemulihan luka pada kulit dan peningkatan fungsi kesehatan pencernaan, berkat efek anti-inflamasi dan regeneratifnya³⁰.

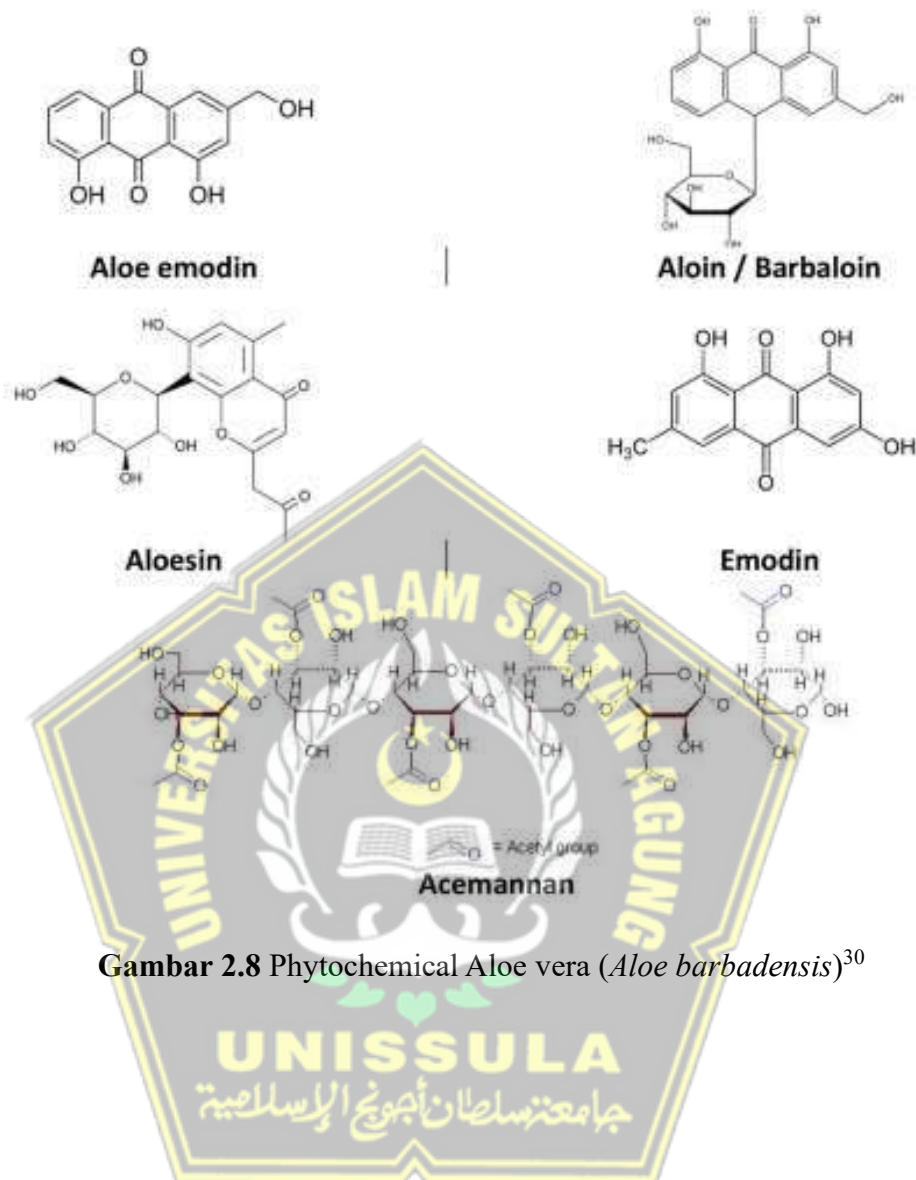


Gambar 2.7 Aloe vera (*Aloe barbadensis*)³¹

Klasifikasi Aloe vera (*Aloe barbadensis*)

Kingdom : *Plantae*
Clade : *Tracheophytes*
Clade : *Angiosperms*
Clade : *Monocotyledons*
Order : *Asparagus*
Family : *Asphodelaceae*
Genus : *Aloe*
Species : *A. vera*

Senyawa aktif dalam Aloe vera, seperti acemannan, diketahui berfungsi sebagai stimulator sistem imun, yang mempercepat regenerasi jaringan dan penyembuhan luka. Selain itu, flavonoid dalam Aloe vera memberikan efek antioksidan yang membantu melindungi sel dari kerusakan oksidatif, sementara saponin dikenal sebagai agen pembersih dan antiseptik, yang bermanfaat untuk mencegah infeksi pada luka terbuka ³⁰.



Gambar 2.8 Phytochemical Aloe vera (*Aloe barbadensis*)³⁰

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori

Luka bakar derajat II atau luka bakar dengan ketebalan sebagian adalah cedera kulit yang melibatkan epidermis dan bagian atas dermis. Luka ini biasanya menyebabkan kerusakan pada lapisan kulit superfisial, tetapi tidak sampai pada jaringan subkutan yang lebih dalam. Kerusakan pada sel superfisial menyebabkan terlepasnya DAMPs (Damage-Associated Molecular Patterns), yaitu molekul endogen yang dilepaskan oleh sel yang rusak atau mati, seperti HMGB1 (High Mobility Group Box 1), asam urat, dan ATP ekstraseluler. Molekul endogen yang dilepaskan di jaringan ekstraseluler dapat berikatan dengan reseptor TLR4 yang dapat menginduksi transkripsi TNF- α yang pada akhirnya akan menginduksi transkripsi IL-6 melalui jalur aktivasi NF- κ B & MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase)^{32,33}.

Aloe emodin dan Eugenol yang terkandung dalam ekstrak Aloe vera dan Daun sirih terbukti dapat mengurangi sitokin pro inflamasi melalui pengaktifan PI3K/AKT *pathway*. Salah satu efek penting dari aktivasi jalur PI3K/AKT adalah penurunan ekspresi TLR4, yang mengurangi pengaktifan lebih lanjut dari respon inflamasi. Dengan menurunkan aktivasi TLR4, jalur PI3K/AKT membantu mengendalikan ekspresi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α dan IL-6^{34,35}. Hal ini menjadi dasar pengukuran IL-6 penting untuk memahami sejauh mana respon inflamasi terjadi pada luka bakar derajat II dan apakah intervensi Aloe emodin dan

Eugenol yang terkandung dalam ekstrak Aloe vera dan Daun Sirih dapat memodulasi produksi IL-6 melalui aktivasi jalur PI3K/AKT.

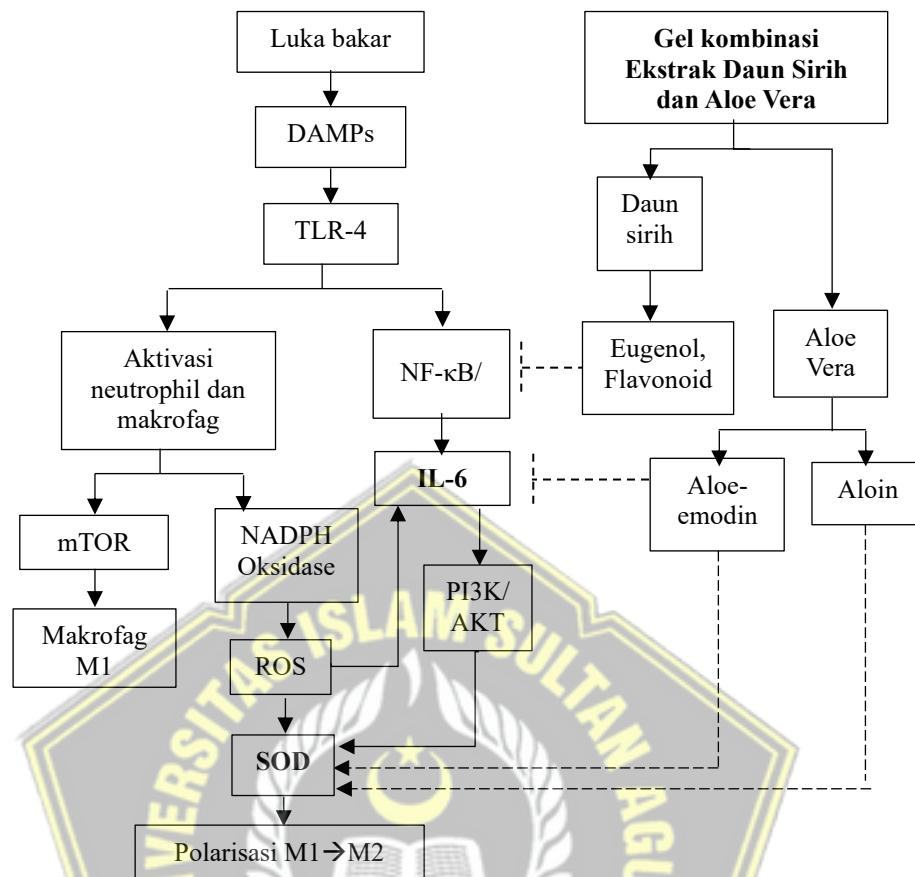
Aloe-emodin dan Eugenol juga terbukti dapat mempengaruhi jalur aktivasi mTOR yang berkaitan secara tidak langsung dengan sitokin pro-inflamasi. mTOR adalah protein kinas yang diaktifkan oleh jalur PI3K/AKT dan memainkan peran utama dalam mengatur pertumbuhan sel dan respons terhadap stres, termasuk inflamasi. Aktivasi mTOR berperan dalam pengaturan polaritas makrofag. Pasca luka bakar, aktivasi mTOR memicu perubahan polaritas makrofag dari fenotipe M1 yang bersifat proinflamasi menjadi fenotipe M2 yang bersifat antiinflamasi. Perubahan ini meningkatkan ekspresi sitokin antiinflamasi, seperti IL-10 dan IFN- β , serta menurunkan ekspresi sitokin proinflamasi, termasuk IL-6^{36,37}. Pengukuran kadar IL-6 sangat penting untuk menilai sejauh mana respons inflamasi terjadi pada luka bakar derajat II dan untuk mengevaluasi apakah intervensi dengan Aloe-emodin dan Eugenol dapat memodulasi produksi IL-6 melalui aktivasi jalur PI3K/AKT.

Pada luka bakar derajat II, selain sitokin pro inflamasi, Reactive Oxygen Species (ROS) juga menjadi indikator penting pada penyembuhan luka bakar, ROS konsentrasi tinggi dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada jaringan sehat di sekitar luka. Ini memperlambat proses regenerasi sel. Untuk mengimbangi efek negatif ROS, tubuh mengandalkan enzim antioksidan seperti Superoxide Dismutase (SOD) untuk membantu menjaga keseimbangan redoks dalam sel yang menyebabkan penurunan Kadar SOD didalam tubuh. Penelitian pada model tikus Middle Cerebral Artery Occlusion/Reperfusion (MCAO/R) dimana kadar LDH dan

MDA sebagai indikator stres oksidatif dan kerusakan sel meningkat secara signifikan dan sementara kadar SOD (Superoxide Dismutase), yang merupakan indikator kapasitas antioksidan, menurun. Aloe emodin dapat menurunkan kadar LDH dan MDA serta meningkatkan kadar SOD secara dosis-dependen³⁵.

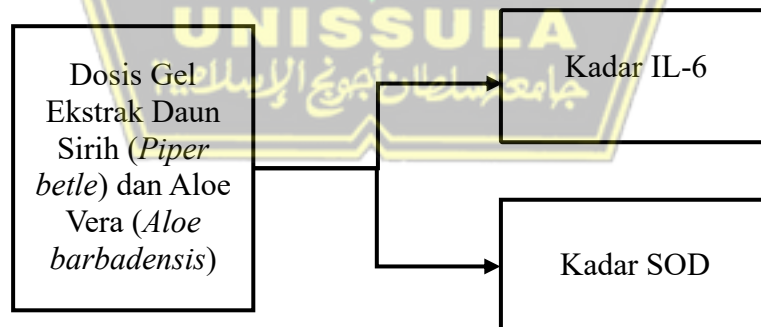
Pengukuran kadar SOD dalam penelitian ini memberikan gambaran langsung mengenai kapasitas antioksidan tubuh. Kondisi inflamasi hebat akan menyebabkan penurunan kadar antioksidan termasuk SOD secara signifikan, yang secara subjektif dipengaruhi dengan faktor lain seperti lingkungan, genetic, status gizi, jenis kelamin dan umur. Kadar SOD menunjukkan upaya tubuh untuk memperbaiki kerusakan akibat oksidasi, menetralkan ROS dan memperbaiki keseimbangan redoks.





Gambar 3.1 Kerangka Teori

3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis Penelitian

Kombinasi dosis ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) berpengaruh terhadap kadar sitokin pro-inflamasi IL-6 dan Superoxide Dismutase (SOD) pada tikus Wistar dengan luka bakar derajat II.

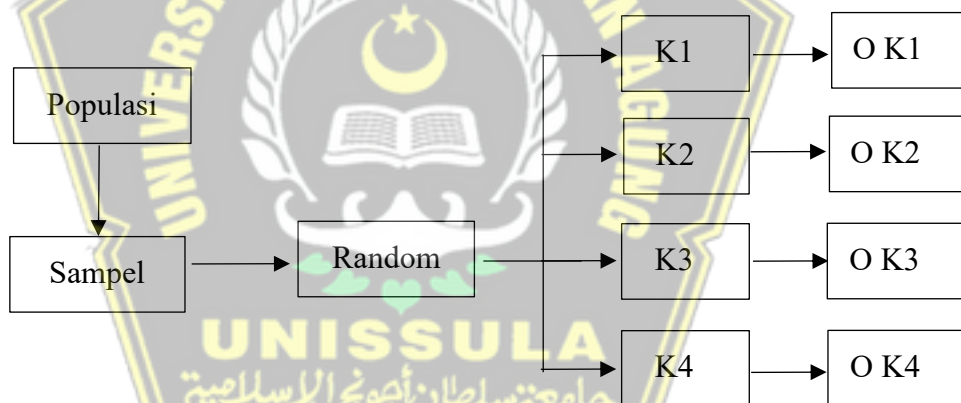


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vivo* dengan menggunakan metode *Post Test Only Control Group Design* pada hewan uji berupa tikus jantan galur Wistar. Tujuan penelitian adalah untuk mengevaluasi efek pemberian gel kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan aloe vera (*Aloe barbadensis*) terhadap kadar *Interleukin-6* (IL-6) dan *Superoxide dismutase* (SOD) pada tikus Wistar jantan dengan model luka bakar derajat II.



Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

- a. K1 : Kontrol negatif yaitu tikus diberi paparan luka bakar derajat II dan pemberian base gel.
- b. K2 : Kelompok perlakuan 1 yaitu tikus diberi pakan *standard* dan paparan luka bakar derajat II dan diberikan gel ekstrak daun sirih (*Piper betle*) 20%.

- c. K3 : Kelompok perlakuan 2 yaitu tikus diberi pakan *standard* dan paparan luka bakar derajat II dan diberikan gel ekstrak Aloe vera (*Aloe barbadensis*) 3%.
- d. K4 : Kelompok perlakuan 3 yaitu tikus diberi pakan *standard* dan paparan luka bakar derajat II dan diberikan gel kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) 10% dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) 1,5% secara topikal.

4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.2.1. Variabel Penelitian

4.2.1.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian gel ekstrak kombinasi daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) dengan variasi dosis rendah, sedang dan tinggi. Konsentrasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) yang ditentukan dalam penelitian ini merujuk pada beberapa penelitian yang menggunakan ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan atau Aloe vera (*Aloe barbadensis*) dengan administrasi topikal dengan subjek penelitian yang linear.

a. Dosis Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*)

Konsentrasi efektif terendah dimulai pada dosis 3% dengan signifikansi peningkatan kadar IL- β , peningkatan waktu penyembuhan luka dibandingkan dengan Vaseline dan Bioplasenton³⁸, dan konsentrasi tertinggi efektif pada dosis 20%

dalam pengujian efikasi penutupan luka sayatan pada tikus Wistar³⁹. Dosis letal (LD50) pada ekstrak daun sirih lebih tinggi dari 5000 mg/Kg berat badan⁴⁰. Uji toksisitas akut dan sub akut serta genotoksisitas sudah dilakukan menggunakan ekstrak alkohol daun sirih pada tikus dan model sel, dan tidak ditemukan efek negatif yang merugikan. Daun sirih dinyatakan aman berdasarkan parameter hematotoksisitas, hepatotoksisitas, genotoksisitas, berat organ, morfologi makroskopis, serta respons stres dan perilaku agresif pada tikus. Studi lain juga mengonfirmasi bahwa ekstrak etanol daun sirih tidak menunjukkan efek toksik terhadap fibroblas dermal normal manusia⁴⁰.

b. Dosis Ekstrak Aloe vera (*Aloe barbadensis*)

Penggunaan gel Aloe vera 3% dalam penelitian ini didasarkan pada bukti ilmiah yang menunjukkan bahwa formulasi dengan konsentrasi tersebut efektif dalam mempercepat proses penyembuhan luka, khususnya luka bakar derajat dalam pada model tikus. Salah satu studi penting yang mendukung hal ini dilakukan oleh Movaffagh et al. (2022), yang mengevaluasi efisiensi penyembuhan luka dari hidrogel Chitosan/Aloe vera pada luka dalam model tikus. Hasilnya menunjukkan bahwa Aloe vera memberikan perbaikan signifikan pada re-epitelisasi jaringan luka dan mempercepat pemulihan luka kulit secara menyeluruh pada tikus dengan luka *full-thickness*⁴¹.

Konsentrasi 3% Aloe vera memberikan keseimbangan optimal antara efektivitas biologis dan tolerabilitas topikal. Studi lain oleh Khan et al. (2023) juga menunjukkan bahwa formulasi gel chitosan yang mengandung Aloe vera menunjukkan efek stimulatif terhadap angiogenesis serta kemampuan mempercepat regenerasi jaringan pada model luka bakar tikus Wistar, tanpa efek toksik⁴². Selain itu, konsentrasi ini tidak menimbulkan iritasi kulit dan cukup kuat untuk memodulasi proses inflamasi serta meningkatkan aktivitas antioksidan di area luka.

- i. K2 : gel ekstrak daun sirih (*Piper betle*) 20 %
- ii. K3 : gel ekstrak Aloe vera (*Aloe barbadensis*) 3%
- iii. K4 : gel ekstrak daun sirih (*Piper betle*) 10% dan ekstrak Aloe vera (*Aloe barbadensis*) 1,5%

4.2.1.1. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar IL-6 dan Superoxide Dismutase (SOD).

4.2.2. Definisi Operasional

4.2.2.1. Gel Kombinasi Ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*)

Sediaan topikal berupa gel kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) dibuat melalui proses ekstraksi dengan pelarut air. Dalam penelitian ini, sediaan diformulasikan dalam dua jenis: kombinasi ekstrak daun sirih 10%

dan *Aloe vera* 1,5%, serta sediaan tunggal daun sirih 20% dan *Aloe vera* 3% yang digunakan sebagai kelompok pembanding. Gel tersebut dioleskan secara topikal sebanyak 0,5 cc setiap hari selama enam hari berturut-turut pada permukaan luka bakar derajat II di punggung tikus jantan galur Wistar.

Satuan : % konsentrasi ekstrak

Skala : Ordinal.

4.2.2.2. Interleukin-6

Interleukin-6 (IL-6) dalam penelitian ini adalah sitokin proinflamasi yang diukur dari sampel darah tikus Wistar yang mengalami luka bakar derajat II, menggunakan metode ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Kadar IL-6 mencerminkan tingkat respon inflamasi lokal akibat luka dan efektivitas agen terapi dalam menekan peradangan.

Satuan : pg/mg.

Skala : rasio.

4.2.2.3. Superoxide Dismutase (SOD)

Superoxide Dismutase (SOD) dalam penelitian ini adalah enzim antioksidan endogen yang berperan dalam menangkal stres oksidatif akibat luka bakar. Aktivitas SOD diukur dari sampel darah tikus Wistar yang mengalami luka bakar derajat II, menggunakan metode ELISA. SOD menunjukkan kemampuan sistem pertahanan

antioksidan tubuh dalam mengatasi radikal bebas yang terbentuk akibat cedera jaringan.

Satuan : mg/L.

Skala : rasio.

4.3. Populasi dan Sampel

4.3.1. Populasi dan Sampel

Populasi penelitian adalah tikus jantan galur Wistar berusia 10–12 minggu dengan berat badan 150–200 gram. Hewan uji dipelihara menggunakan pakan pelet standar dan diberi air minum berupa air putih pada suhu ruang. Suhu pemeliharaan dijaga pada kisaran 28–32 °C dengan ventilasi yang memadai. Sebelum perlakuan, tikus diadaptasi selama 7 hari.

4.3.1.1. Kriteria Inklusi

- a. Tikus dalam keadaan sehat, bergerak aktif dengan makan dan minum yang cukup
- b. Secara makroskopis tikus tidak ada kelainan morfologi
- c. Tikus jantan galur Wistar dengan usia 10–12 minggu dan berat badan antara 150-200 gram, sesuai dengan kriteria sampel penelitian.

4.3.1.2. Kriteria Eksklusi

- a. Tikus menunjukkan tanda stres atau perilaku abnormal sebelum perlakuan dimulai.
- b. Terdapat luka, infeksi, atau riwayat penyakit kulit sebelum perlakuan.

- c. Tikus dalam kondisi yang dapat memengaruhi hasil (misalnya sedang mengalami perubahan berat badan ekstrem, atau gangguan metabolik).
- d. Tidak memenuhi validasi luka bakar derajat II

4.3.1.3. Drop Out

- a. Tikus mati saat penelitian berlangsung
- b. Tikus menjadi sakit selama perlakuan

4.3.2. Besar Sampel

Besar sampel ditentukan dengan menggunakan rumus Federer:

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

$$\text{Keterangan} : n = \text{Jumlah sampel}$$

$$: t = \text{Jumlah kelompok}$$

$$\text{Banyak Kelompok} : 4 \text{ kelompok } (t=4)$$

$$\text{Sampel tiap kelompok} : (n-1) \times (t-1) \geq 15$$

$$(n-1) \times (4-1) \geq 15$$

$$(n-1) \times 3 \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$n \geq (15+3)/3$$

$$n \geq 6$$

Berdasarkan rumus Federer, jumlah sampel tikus yang didapatkan yaitu berjumlah 6 ekor perkelompok. Penelitian ini dikerjakan pada 4

kelompok perlakuan, yang disetiap kelompok terdiri atas 6 ekor tikus, dengan total keseluruhan berjumlah 24 ekor tikus wistar.

4.3.3. Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Penelitian ini menerapkan teknik *simple random sampling* dalam pengambilan sampel. Sebanyak 24 ekor tikus jantan galur Wistar yang memenuhi kriteria inklusi dibagi secara acak menjadi empat kelompok, masing-masing berjumlah enam ekor. Dari empat kelompok tersebut, satu berfungsi sebagai kelompok kontrol dan tiga lainnya sebagai kelompok perlakuan.

4.4. Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1. Alat

1. Microplate: Plat 96 sumur (96-well plate)
2. Wash bottle atau Microplate Washer:
3. Inkubator ELISA
4. Pipet otomatis
5. Vortex mixer
6. Microcentrifuge
7. Pembaca absorbansi (ELISA reader)
8. Timer digital
9. Kandang tikus dengan tempat pakan dengan ukuran P: 40 cm, L: 30 cm, T: 30 cm,
10. Timbangan tikus “*Nigushi Scale*”
11. Wash bottle/microplate washer

12. Mikropipet dan tip
13. Logam silinder berdiameter ± 2 cm
14. Jarum suntik
15. Spatula
16. Kamera dokumentasi

4.4.2. Bahan

1. Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*): diperoleh dari PT Phytochemindo Reksa
2. Ekstrak Aloe Vera (*Aloe barbadensis*): diperoleh dari PT Phytochemindo Reksa
3. Aquabides
4. ELISA analisis kit
5. Base Gel: diproduksi oleh PT Derma Elok Farma
6. Reagen kit IL-6 dan SOD
7. Buffer PBS (Phosphate Buffer Saline)
8. Enzim conjugate
9. Stop Solution
10. Alkohol 70%

4.5. Cara Penelitian

4.5.1. Perolehan Ethical Clearance

Ethical clearance penelitian diajukan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Protokol yang digunakan disusun berdasarkan prinsip 3R (*Replacement, Reduction, Refinement*), yang bertujuan untuk

meminimalkan penderitaan hewan serta menjaga integritas ilmiah dan etika dari data yang dihasilkan.

4.5.2. Cara Pembuatan Ekstrak Daun Sirih dan Aloe Vera

Sampel daun sirih segar (*Piper betle*) dan daun Aloe vera (*Aloe barbadensis*) masing-masing sebanyak 500 g dibersihkan dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C hingga kadar air di bawah 10%. Simplisia kemudian disortasi, dihaluskan dengan blender, dan diayak menggunakan ayakan 20 mesh.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. Simplisia direndam dalam etanol selama tiga hari dengan pengadukan tiga kali sehari. Setelah itu, rendaman disaring dan ampasnya dimaserasi kembali selama dua hari menggunakan etanol 96% sebanyak 1500 mL. Maserasi ulang dilakukan dua kali untuk memperoleh hasil ekstrak yang optimal. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C hingga menghasilkan ekstrak kental..

Selain itu, untuk menjamin efektivitas, keamanan, kualitas, dan stabilitas bahan aktif yang digunakan dalam penelitian ini, ekstrak Daun Sirih dan Aloe Vera yang digunakan diperoleh dari PT Phytochemindo Reksa yang telah memiliki *Certificate of Analysis* (COA) dan *Material Safety Data Sheet* (MSDS). Penggunaan ekstrak bersertifikat ini bertujuan untuk menjaga konsistensi kualitas bahan aktif serta meningkatkan validitas hasil penelitian.

4.5.3. Pembuatan Sediaan Gel Ekstrak Daun Sirih dan Aloe Vera

Pembuatan sediaan gel kombinasi ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*) dan Aloe Vera (*Aloe barbadensis*) dilakukan dengan menggunakan Base Gel Cream produksi PT Derma Elok Farma, yang telah memiliki *Certificate of Analysis* (COA) dan *Material Safety Data Sheet* (MSDS) untuk menjamin kualitas, efektivitas, keamanan, dan stabilitas produk.

Base Gel Cream yang digunakan memiliki karakteristik fisik berupa gel tidak berwarna hingga putih berbau khas samar dengan pH antara 6,0–7,0, rentang viskositas 33.000–43.000 cPs, dan densitas 0,95–1,01 g/ml, serta telah terdaftar di BPOM dengan nomor notifikasi NA18200106292.

Komposisi Base Gel Cream meliputi Aqua, Glycerin, Polyacrylamide, Trilaureth-4 Phosphate, C13-14 Isoparaffin, Phenoxyethanol, Laureth-7, dan Ethylhexylglycerin. Produk ini dirancang untuk memberikan hidrasi ringan, cepat meresap, dan cocok untuk formulasi kulit berminyak hingga acne-prone.

Pembuatan sediaan gel dilakukan dengan tahapan berikut:

1. Penyiapan Base Gel Cream: Base Gel Cream diaduk perlahan menggunakan spatula steril untuk memastikan homogenitas.
2. Penambahan Ekstrak Aktif: Ekstrak Daun Sirih dan Aloe Vera yang telah diperoleh dari PT Phytochemindo Reksa ditimbang sesuai kadar yang telah ditentukan, kemudian dimasukkan perlahan ke dalam Base Gel Cream sambil diaduk hingga homogen.

3. Pencampuran: Pencampuran ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan *Aloe vera* ke dalam base gel dilakukan secara aseptik menggunakan teknik folding dalam piala gelas menggunakan spatula stainless, hingga diperoleh campuran yang homogen. Jika diperlukan, proses dapat dibantu dengan homogenizer kecepatan rendah untuk memastikan distribusi ekstrak merata di seluruh matriks gel.
4. Penyesuaian pH dan viskositas: Setelah proses homogenisasi selesai, dilakukan pengukuran pH dan viskositas untuk memastikan kestabilan dan kenyamanan sediaan saat diaplikasikan pada kulit. Nilai pH diukur menggunakan pH meter digital, dengan target rentang 5,5–6,5 yang sesuai untuk aplikasi topikal. Apabila nilai pH berada di luar rentang tersebut, dilakukan penyesuaian menggunakan larutan NaOH 0,1 N atau larutan asam sitrat 10%. Viskositas diukur menggunakan viskometer tipe Brookfield dan dicatat dalam satuan centipoise (cPs) untuk memastikan konsistensi formulasi tetap stabil dan mudah digunakan.
5. Penyimpanan: Gel yang telah homogen dikemas dalam wadah steril tertutup rapat dan disimpan pada suhu ruang, di tempat kering dan terlindung dari cahaya langsung.

Dengan menggunakan base yang telah terstandarisasi ini, stabilitas, keamanan, dan efektivitas bahan aktif di dalam sediaan gel dapat lebih terjamin.

4.5.4. Penetapan Dosis

Dosis ditentukan berdasarkan hasil ekstraksi. Tikus diberi gel sebanyak 0,5 g pada area luka bakar derajat II setiap hari selama 6 hari.

4.5.5. Cara Persiapan Sebelum Perlakuan

Hewan uji berupa tikus Wistar jantan berumur 2-3 bulan dengan berat 150-200 g. Tikus diadaptasi selama 7 hari sebelum perlakuan. Tikus diberikan pakan standar dan minum ad libitum. Ruangan uji disesuaikan dengan suhu 28-32°C dan pencahayaan alami.

- a. Sampel penelitian yaitu hewan coba yang memenuhi kriteria inklusi diambil secara acak sederhana sebanyak 24 ekor. Hewan uji tersebut dibagi menjadi empat kelompok, masing-masing terdiri atas enam ekor, dengan rincian satu kelompok sebagai kontrol dan tiga kelompok sebagai perlakuan. Seluruh hewan uji diadaptasi terlebih dahulu selama tujuh hari sebelum diberikan perlakuan.
- b. Sampel sebanyak 24 ekor tikus jantan galur Wistar diaklimatisasi di laboratorium
- c. Hewan coba diberi pakan standar dengan komposisi protein 20–25%, pati 45–55%, lemak 10–12%, dan serat kasar 4%, sebanyak 15–20 gram per hari, serta mendapatkan air putih dengan jumlah yang sama setiap hari.

4.5.6. Cara Pemberian Luka Bakar Derajat II

Induksi luka bakar derajat II dilakukan pada tikus Wistar jantan yang telah diadaptasi selama 7 hari. Sebelum dilakukan tindakan, tikus diberi anestesi menggunakan kombinasi ketamin (75 mg/kgBB) dan xylazine (10

mg/kgBB) secara intraperitoneal untuk menghindari rasa nyeri dan pergerakan selama prosedur.

Setelah tikus dalam kondisi anestesi penuh (tidak menunjukkan respon terhadap stimulus nyeri), area dorsum (punggung) dengan diameter 5x5cm dicukur dan dibersihkan dengan kapas alkohol 70%. Luka bakar derajat II kemudian diinduksi menggunakan logam silinder berdiameter ± 2 cm yang telah dipanaskan pada suhu $\geq 80-100^{\circ}\text{C}$ selama beberapa menit. Logam panas kemudian ditempelkan pada kulit dorsum tikus dengan tekanan minimal dan stabil selama 3–5 detik, tanpa digeser atau ditekan secara berlebihan, untuk menghasilkan luka bakar superfisial hingga dermis bagian dalam. Tindakan ini menghasilkan luka bakar derajat II yang ditandai dengan kemerahan, bula (lepuhan), dan kerusakan pada epidermis hingga sebagian dermis.

4.5.7. Pemberian Perlakuan Gel

Sediaan gel kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan *Aloe vera* diberikan secara topikal satu kali sehari selama 6 hari berturut-turut langsung pada area luka. Aplikasi dilakukan menggunakan spatula plastik steril dengan volume gel yang disesuaikan berdasarkan berat badan tikus dan luas luka $\pm 3,14 \text{ cm}^2$, untuk memastikan perlakuan yang homogen di seluruh permukaan luka.

Selama periode perlakuan, tikus diamati setiap hari guna memonitor proses penyembuhan luka, kondisi umum hewan, dan kemungkinan reaksi lokal seperti iritasi atau peradangan. Kebersihan kandang dijaga dengan baik

dan suhu lingkungan dipertahankan pada kisaran normal agar tidak mengganggu proses regenerasi jaringan.

Pada hari ke-7, seluruh tikus dianestesi dan dilakukan terminasi sesuai prosedur etik laboratorium hewan. Sampel darah diambil secara aseptik melalui pengambilan darah terminal dari vena kava/retroorbital. Darah ditampung dalam tabung tanpa antikoagulan, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit untuk memperoleh serum. Serum dipindahkan ke dalam cryotube steril dan disimpan pada suhu -20°C hingga dilakukan analisis. Kadar IL-6 dan SOD dianalisis menggunakan metode ELISA berdasarkan protokol standar dari kit yang digunakan.

4.5.8. Pengukuran Kadar IL-6 dan Superoxide Dismutase (SOD).

Sampel darah yang sudah diperoleh kemudian dianalisis kadar IL-6 dan SOD menggunakan metode ELISA. Pemeriksaan kadar IL-6 dan SOD dilakukan dengan menggunakan metode ELISA. Kit ELISA yang digunakan telah tervalidasi untuk spesies tikus, dengan sensitivitas dan spesifisitas tinggi sesuai standar internasional. Analisis ELISA untuk IL-6 dan SOD dilakukan berdasarkan prosedur yang tercantum dalam petunjuk reagensia. Pengukuran kadar dilakukan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 450 nm. Tahap pemeriksaan metode ELISA yaitu sebagai berikut:

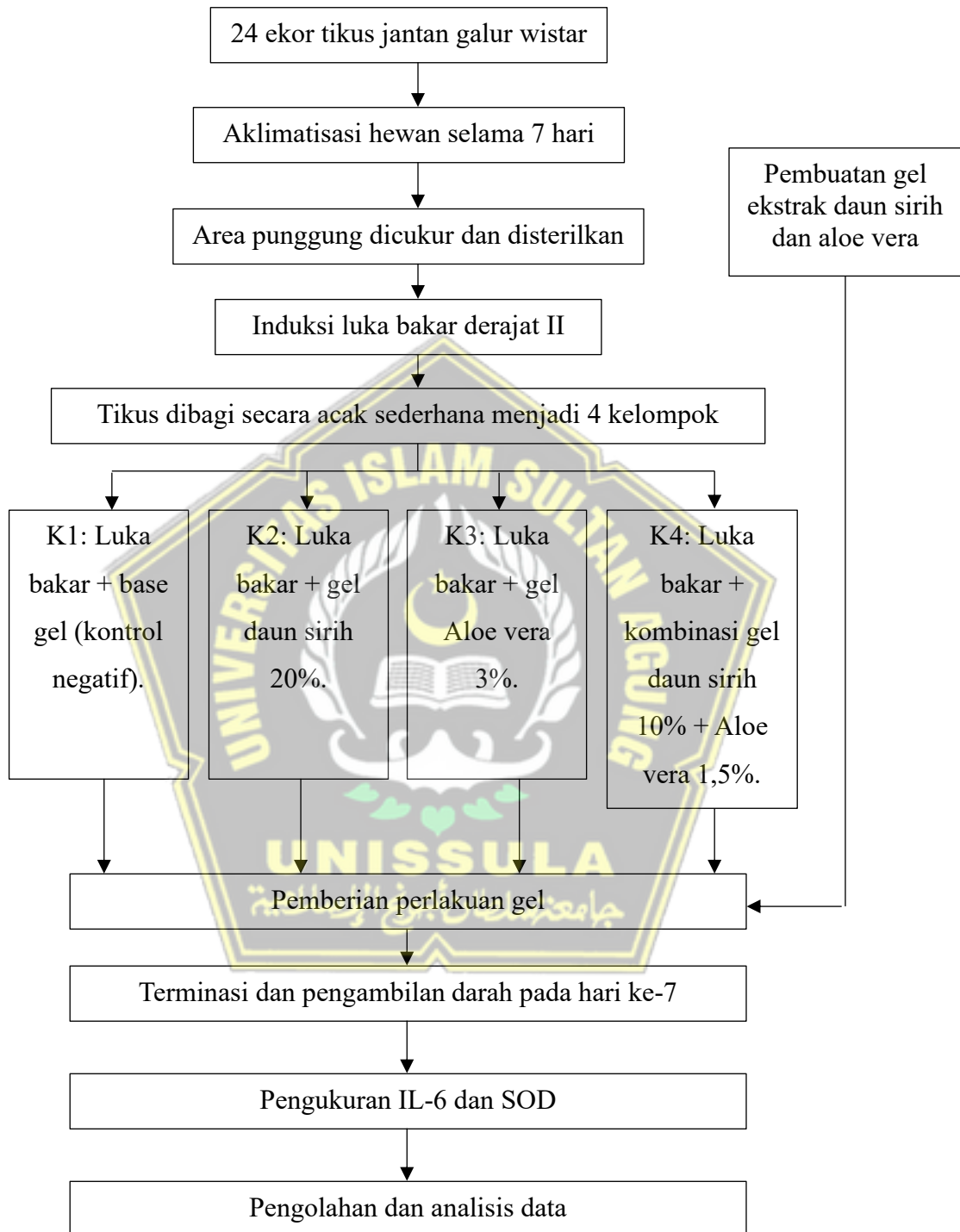
1. Pembuatan Standar : Campurkan 120 μl standar (800ng/L) dengan 120 μl pengencer standar untuk menghasilkan larutan stok standar 400ng/L. Standar didiamkan selama 15 menit dengan pengadukan perlahan sebelum dilakukan pengenceran. Titik standar disiapkan secara duplikat

dengan mengencerkan larutan stok standar (400 ng/L) secara serial 1:2 menggunakan pengencer standar, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 200 ng/L, 100 ng/L, 50 ng/L, dan 25 ng/L. Pengencer standar digunakan sebagai kontrol nol (0 ng/L). Sisa larutan disimpan dalam kondisi beku pada suhu -20°C .

2. *Wash Buffer* : Sebanyak 20 mL konsentrat *Wash Buffer* 25 $\times$ diencerkan dengan air deionisasi atau air suling hingga mencapai volume 500 mL untuk menghasilkan *Wash Buffer* 1 $\times$. Apabila terbentuk kristal pada konsentrat, aduk perlahan hingga kristal larut sempurna.
3. Siapkan semua reagen, larutan standar, dan sampel sesuai petunjuk. Biarkan semua reagen mencapai suhu ruangan sebelum digunakan. Pengujian dilakukan pada suhu ruangan.
4. Tentukan jumlah strip yang diperlukan untuk pengujian, kemudian pasang strip tersebut pada bingkai sebelum digunakan. Strip yang tidak terpakai disimpan pada suhu 2–8 $^{\circ}\text{C}$.
5. Tambahkan 50 μL standar ke dalam sumur standar. Catatan: Jangan tambahkan antibodi terbiotinilasi ke dalam sumur standar karena larutan standar mengandung antibodi terbiotinilasi.
6. Tambahkan 40 μL sampel serum ke setiap sumur sampel, kemudian tambahkan 10 μL antibodi anti-SCF. Setelah itu, masukkan 50 μL streptavidin-HRP ke dalam sumur sampel dan sumur standar (kecuali sumur kontrol kosong). Aduk perlahan hingga rata, tutup pelat dengan *sealer*, lalu inkubasi selama 60 menit pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$.

7. Lepaskan sealer dan cuci pelat sebanyak 5 kali dengan cairan pencuci. Rendam setiap sumur dengan 300 μ L cairan pencuci selama 30 detik hingga 1 menit pada tiap kali pencucian. Untuk pencucian otomatis, aspirasi atau buang isi sumur kemudian lakukan pencucian sebanyak lima kali menggunakan cairan pencuci. Setelah itu, keringkan pelat di atas tisu atau bahan penyerap lainnya.
8. Tambahkan 50 μ L larutan substrat A ke setiap sumur, lalu tambahkan 50 μ L larutan substrat B. Setelah itu, tutup pelat dengan *sealer* baru dan inkubasi selama 10 menit pada suhu 37 °C dalam kondisi gelap.
9. Tambahkan 50 μ L larutan *stop solution* ke setiap sumur; warna biru akan segera berubah menjadi kuning.
10. Ukur kerapatan optik (OD) setiap sumur menggunakan pembaca mikroplat (*microplate reader*) pada panjang gelombang 450 nm dalam waktu 10 menit setelah penambahan larutan *stop solution*.

4.6. Alur Penelitian



Gambar 4.2 Alur Penelitian

4.7. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli hingga Agustus 2025 di empat lokasi utama, yaitu:

1. Laboratorium Penelitian dan Pemeliharaan Hewan Coba, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA), Semarang. Kegiatan yang dilakukan mencakup aklimatisasi tikus, prosedur induksi luka bakar derajat II, pemberian perlakuan gel secara topikal, serta proses terminasi dan pengambilan sampel serum. Pemeriksaan biomarker IL-6 dan SOD dilakukan di Laboratorium Biomedik FK UNISSULA menggunakan metode ELISA.
2. Laboratorium Riset dan Pengembangan (R&D) PT Derma Elok Farma, Jakarta. Pembuatan sediaan gel dilakukan di fasilitas ini menggunakan basis gel siap pakai yang telah memiliki izin edar BPOM, serta dilengkapi dengan dokumen *Certificate of Analysis* (COA) dan *Material Safety Data Sheet* (MSDS). PT Derma Elok Farma merupakan industri kosmetik yang telah tersertifikasi Cara Pembuatan Kosmetik yang Baik (CPKB), sehingga menjamin mutu, keamanan, dan kestabilan sediaan yang digunakan dalam penelitian.
3. Laboratorium Produksi dan Riset Ekstrak, PT Phytochemindo Reksa. Proses pembuatan ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) dilakukan di fasilitas ini menggunakan metode ekstraksi terstandar yang sesuai dengan prinsip *Good Laboratory Practice* (GLP). PT Phytochemindo Reksa telah memiliki *Certificate of Analysis* (COA) dan *Material Safety Data Sheet* (MSDS) untuk bahan baku yang digunakan, serta dilengkapi peralatan ekstraksi yang mendukung validitas hasil. Keberadaan dokumen dan sertifikasi

tersebut menjamin mutu, keamanan, dan kestabilan ekstrak sebagai bahan aktif utama dalam sediaan gel.

4.8. Analisis Data

Data hasil penelitian yang mencakup kadar Interleukin-6 (IL-6) dan Superoxide Dismutase (SOD) dari masing-masing kelompok diproses melalui tahapan penyuntingan, pembersihan, dan tabulasi untuk memastikan keakuratan serta kelengkapan data. Selanjutnya dilakukan analisis deskriptif untuk mengetahui rerata, simpangan baku, dan distribusi nilai tiap kelompok.

Uji normalitas data menggunakan Shapiro-Wilk, sedangkan homogenitas varians diuji dengan Levene's test. Apabila data berdistribusi normal tetapi varians tidak homogen, perbedaan antar kelompok dianalisis menggunakan Welch ANOVA dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tamhane* untuk mengidentifikasi kelompok yang berbeda signifikan.

Jika data tidak berdistribusi normal dan varians tidak homogen, analisis antar kelompok dilakukan dengan uji non-parametrik Kruskal-Wallis, kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk perbandingan antar kelompok. Seluruh pengolahan data dan analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak *SPSS for Windows*, dengan tingkat signifikansi ditetapkan pada $p < 0,05$.

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek pemberian gel kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) terhadap kadar IL-6 dan SOD pada tikus Wistar yang mengalami luka bakar derajat II. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Juli hingga Agustus 2025, dengan pelaksanaan laboratorium yang tersebar di empat lokasi yaitu PT Phytochemindo Reksa, yang bertanggung jawab untuk pembuatan ekstrak daun sirih dan Aloe vera; PT Derma Elok Farma, yang melakukan formulasi gel; *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL), sebagai lokasi pengujian pada hewan uji.

Proses penelitian berlangsung selama tujuh hari, dimulai dengan induksi luka bakar derajat II pada tikus Wistar, pemberian perlakuan pengolesan gel pada masing-masing kelompok, dan diakhiri dengan pengambilan sampel pada hari ketujuh. Sebanyak 24 ekor tikus jantan galur Wistar, dengan usia 10-12 minggu dan berat badan antara 150-200 gram, dipilih sebagai subjek penelitian. Sebelum perlakuan, tikus-tikus dipastikan berada dalam kondisi sehat dan menjalani masa adaptasi selama tujuh hari. Namun, hanya 20 ekor tikus yang dianalisis menggunakan metode ELISA karena beberapa tikus tidak memenuhi kriteria akhir penelitian atau mengalami kematian/penurunan kondisi selama percobaan. Tikus dibagi menjadi empat kelompok perlakuan,

masing-masing terdiri dari lima ekor. Kelompok-kelompok yang terlibat dalam penelitian ini adalah:

- K1 (Kontrol): Tikus diinduksi luka bakar derajat II dan diolesi base gel.
- K2: Tikus diinduksi luka bakar derajat II dan diolesi gel ekstrak daun sirih 20%.
- K3: Tikus diinduksi luka bakar derajat II dan diolesi gel ekstrak Aloe vera 3%.
- K4: Tikus diinduksi luka bakar derajat II dan diolesi gel yang mengandung kombinasi ekstrak daun sirih 10% dan Aloe vera 1,5%.

Setelah perlakuan, sampel darah diambil pada hari ketujuh untuk mengukur kadar IL-6 dan SOD menggunakan teknik ELISA, yang memungkinkan analisis kadar biomarker inflamasi dan antioksidan. Pengukuran ini dilakukan untuk memantau respons tubuh terhadap luka bakar dan menganalisis sejauh mana pemberian terapi gel dapat mempengaruhi proses penyembuhan.

Prosedur ini dirancang untuk memastikan bahwa data yang diperoleh dapat menggambarkan perubahan yang terjadi selama proses penyembuhan luka dan memberikan gambaran yang lebih jelas mengenai efektivitas terapi gel kombinasi ekstrak daun sirih dan Aloe vera dalam mempercepat penyembuhan luka bakar derajat II serta memodulasi respons inflamasi dan oksidatif.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian gel kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) terhadap kadar IL-6 dan SOD pada tikus Wistar dengan luka bakar derajat II. Berdasarkan tujuan tersebut, analisis yang dilakukan adalah untuk mengukur perubahan kadar IL-6 dan

SOD pada jaringan luka bakar setelah perlakuan dengan gel topikal tersebut. Analisis ini diharapkan dapat memberikan wawasan lebih lanjut tentang efektivitas kombinasi ekstrak herbal dalam mempercepat proses penyembuhan luka melalui modulasi respon inflamasi dan stres oksidatif.

5.1.1. Hasil Pemeriksaan Kadar IL-6 pada Serum Darah

Hasil analisis rerata kadar IL-6 pada tiap kelompok hari ke-7 setelah perlakuan ditunjukkan pada tabel 5.1 sebagai berikut:

Tabel 5.1 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar IL-6 dan One Way ANOVA

Kelompok	Base Gel (K1)	Gel Daun Sirih 20% (K2)	Gel Aloe Vera 3% (K3)	Daun Sirih 10% + Aloe Vera 1,5% (K4)	<i>p value</i>
Kadar IL-6 ng/L					
Mean	3,010	2,592	1,822	2,046	
SD	0,198	1,024	0,264	0,621	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,723	0,375	0,503	0,324	
<i>Levene Test</i>					0,002
<i>Welch ANOVA</i>					<0,001
Keterangan:					
Shapiro-Wilk	= Data berdistribusi normal ($p > 0,05$)				
Levene Test	= Data tidak homogen ($p < 0,05$)				
One Way ANOVA	= Terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ($p < 0,05$)				

Tujuan analisis IL-6 dalam penelitian ini adalah untuk mengevaluasi peran biomarker inflamasi dalam respon tubuh terhadap luka bakar derajat II dan untuk menilai efektivitas terapi gel kombinasi ekstrak daun sirih dan Aloe vera dalam mengatur proses inflamasi selama penyembuhan. Berdasarkan tabel 5.1, kelompok K3 (Gel Aloe Vera 3%) menunjukkan kadar IL-6 terendah dengan rata-rata $1,822 \pm 0,264$ ng/L, yang mengindikasikan bahwa perlakuan dengan gel Aloe vera memberikan efek

signifikan dalam menurunkan kadar IL-6 pada luka bakar derajat II. Selanjutnya, K4 (Daun Sirih 10% + Aloe Vera 1,5%) memiliki kadar IL-6 rata-rata $2,046 \pm 0,621$ ng/L, yang sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok K3, namun masih lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol. K3 (Gel Daun Sirih 20%) memiliki kadar IL-6 rata-rata sebesar $2,592 \pm 1,024$ ng/L, yang lebih tinggi dari kelompok K3 dan K4, namun masih lebih rendah dibandingkan dengan K1. Kelompok K1 (Base Gel) memiliki kadar IL-6 tertinggi dengan rata-rata $3,010 \pm 0,198$ ng/L, yang menunjukkan bahwa base gel tidak memberikan efek signifikan dalam mengurangi kadar IL-6 dibandingkan dengan kelompok lainnya.

Uji normalitas data menggunakan metode *Shapiro-Wilk* menghasilkan nilai signifikansi berkisar antara 0,324 hingga 0,723 pada setiap kelompok. Semua nilai p lebih besar dari 0,05, yang menandakan bahwa data dari masing-masing kelompok terdistribusi normal dan memenuhi asumsi untuk analisis parametrik. Selanjutnya, uji homogenitas varians dengan *Levene Test* menghasilkan nilai signifikansi 0,002 ($p < 0,05$), yang mengindikasikan bahwa data tidak homogen, sehingga varians antar kelompok tidak seragam.

Uji *Welch ANOVA* digunakan untuk menguji perbedaan signifikan antara rata-rata kadar IL-6 seluruh kelompok yang diuji. Berdasarkan hasil uji *Welch ANOVA*, nilai p yang diperoleh adalah 0,044 ($p < 0,05$). Hasil ini menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok yang diuji. Perlakuan yang diberikan, yaitu gel dengan ekstrak daun sirih dan

Aloe vera, berpengaruh terhadap kadar IL-6 antar kelompok, dengan perbedaan signifikan pada tingkat inflamasi yang diukur.

Analisis selanjutnya dilakukan dengan uji *post-hoc Tamhane* untuk menentukan kelompok yang menunjukkan perbedaan signifikan. Uji ini dipilih karena, meskipun data berdistribusi normal, hasil uji Levene menunjukkan varians yang tidak homogen sehingga sebaran antar kelompok tidak seragam. Uji ini lebih tepat digunakan dalam kondisi ketidakhomogenan varians karena dapat mengatasi perbedaan varians antar kelompok, sehingga memberikan hasil yang lebih valid dibandingkan dengan uji *post-hoc* lainnya, seperti *Tukey*, yang mengasumsikan homogenitas varians.

Tabel 5.2 Hasil Uji Post Hoc Tamhane setelah Perlakuan Hari ke-7 terhadap Rata-rata Kadar IL-6

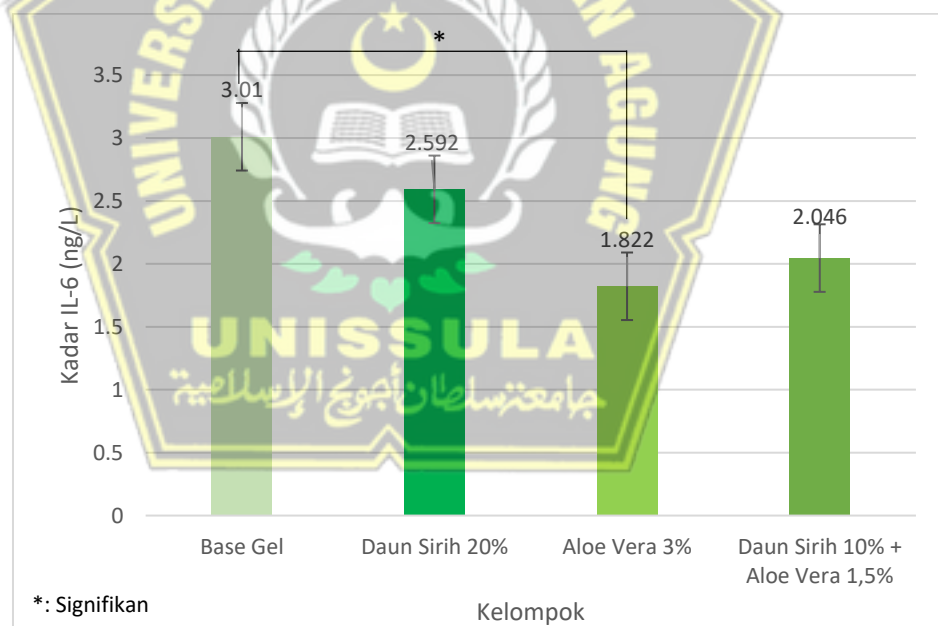
Kelompok	K1	K2	K3	K4
K1	-	0,961	<0,001*	0,128
K2		-	0,674	0,920
K3			-	0,982
K4				-

Keterangan: *Bermakna $p < 0,05$

Berdasarkan hasil uji *post-hoc Tamhane*, hanya Kelompok K1 (base gel) dan Kelompok K3 (gel Aloe vera 3%) yang menunjukkan perbedaan signifikan dengan nilai $p < 0,001$. Hasil ini menunjukkan bahwa gel Aloe vera 3% memberikan efek yang signifikan dalam mengurangi kadar IL-6 pada luka bakar derajat II dibandingkan dengan base gel. Hal ini mengindikasikan bahwa Aloe vera lebih efektif dalam menurunkan kadar

IL-6 pada luka bakar, karena base gel tidak mengandung bahan aktif yang dapat mengurangi inflamasi.

Tidak ditemukan perbedaan signifikan antara Kelompok K2 (gel daun sirih 20%) dan Kelompok K4 (gel daun sirih 10% + Aloe vera 1,5%) dengan kelompok lainnya, yang ditunjukkan dengan nilai p lebih besar dari 0,05. Hal ini berarti, meskipun K2 dan K4 menunjukkan kadar IL-6 yang lebih rendah dibandingkan K1, perbedaan tersebut tidak cukup signifikan secara statistik untuk menyimpulkan bahwa kedua perlakuan tersebut memiliki efek yang berbeda dalam mengurangi kadar IL-6 dibandingkan kelompok kontrol.



Gambar 5.1 Diagram Batang Kadar IL-6 setiap Kelompok

5.1.2. Hasil Pemeriksaan Kadar SOD pada Serum Darah

Hasil analisis rerata kadar SOD pada tiap kelompok hari ke-7 setelah perlakuan ditunjukkan pada tabel 5.3 sebagai berikut:

Tabel 5.3 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar SOD dan Uji One-Way ANOVA

Kelompok	Base Gel (K1)	Gel Daun Sirih 20% (K2)	Gel Aloe Vera 3% (K3)	Daun Sirih 10% + Aloe Vera 1,5% (K4)	<i>p value</i>
Kadar SOD ng/L					
Mean	1,524	1,470	2,008	1,980	
SD	0,175	0,489	0,279	0,200	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,537	0,003	0,649	0,841	
<i>Levene Test</i>					0,253
<i>Kruskal Wallis</i>					0,007

Keterangan:

Shapiro-Wilk = Data tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$)

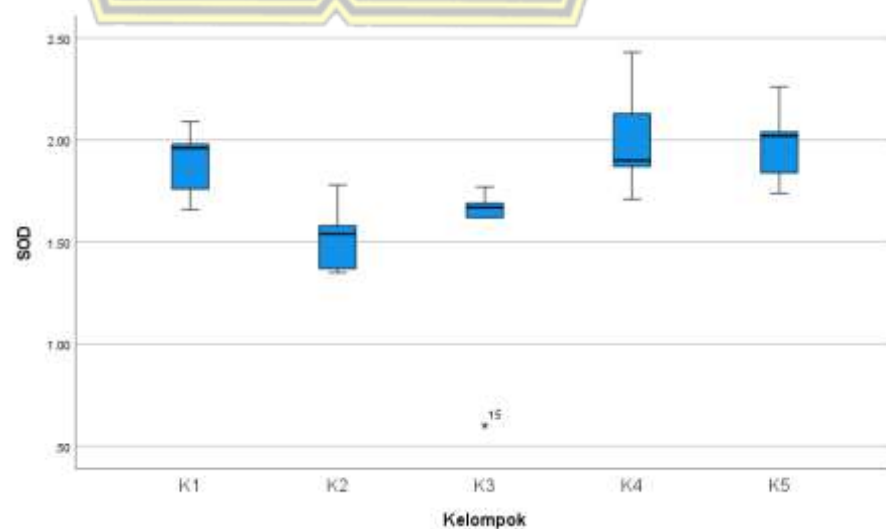
Levene Test = Data homogen ($p > 0,05$)

Kruskal Wallis = Terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ($p < 0,05$)

Berdasarkan tabel 5.3, kelompok K3 (Gel Aloe Vera 3%) memiliki kadar SOD rata-rata $2,008 \pm 0,279$ ng/L, yang merupakan kadar tertinggi di antara kelompok lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa Aloe Vera 3% memiliki potensi yang lebih baik dalam meningkatkan kadar SOD, yang berfungsi sebagai antioksidan untuk melawan stres oksidatif pada luka bakar. Kelompok K4 (Daun Sirih 10% + Aloe Vera 1,5%) memiliki kadar SOD rata-rata $1,980 \pm 0,200$ ng/L, yang sedikit lebih rendah dibandingkan dengan K3, namun masih menunjukkan efek positif yang signifikan. Kombinasi antara daun sirih dan Aloe Vera mungkin memberikan manfaat sinergis dalam mengurangi inflamasi dan meningkatkan kapasitas antioksidan, meskipun tidak sekuat efek dari Aloe Vera 3% saja. Kelompok K1 (Base Gel) yang memiliki kadar SOD rata-rata $1,524 \pm 0,175$ ng/L. Sementara itu, K2 (Gel Daun Sirih

20%) menunjukkan kadar SOD terendah dengan rata-rata $1,470 \pm 0,489$ ng/L.

Uji normalitas data dilakukan menggunakan metode *Shapiro-Wilk*, yang menghasilkan nilai signifikansi antara 0,003 dan 0,841 untuk setiap kelompok. Hasil uji menunjukkan bahwa Kelompok K3 (Gel Daun Sirih 20%) memiliki nilai $p=0,003$. Pada boxplot yang ditunjukkan oleh Gambar 5.2, terlihat adanya outlier atau titik data yang terpisah jauh dari rentang nilai lainnya pada K3, yang menunjukkan adanya distribusi yang tidak seragam atau tidak normal. Outlier ini menandakan bahwa data dalam kelompok ini cenderung tidak terdistribusi secara simetris, yang sejalan dengan hasil uji *Shapiro-Wilk* yang menunjukkan nilai $p=0,003$ ($p < 0,05$), mengindikasikan bahwa data K3 tidak memenuhi asumsi normalitas. Sementara itu, kelompok lainnya (K1, K2, K4, dan K5) memiliki nilai p lebih besar dari 0,05, yang menunjukkan bahwa data pada kelompok-kelompok tersebut terdistribusi normal.



Gambar 5.2 Boxplot Distribusi Kadar SOD pada Setiap Kelompok Perlakuan

Uji homogenitas varians dengan Levene Test menunjukkan nilai signifikansi $p = 0,232$ ($p > 0,05$), sehingga varians antar kelompok dinyatakan homogen atau seragam. Namun, karena kelompok K3 tidak berdistribusi normal, analisis perbedaan antar kelompok dilakukan menggunakan uji nonparametrik Kruskal-Wallis. Hasil uji tersebut menunjukkan nilai $p = 0,007$, yang menandakan adanya perbedaan signifikan antar kelompok dalam kadar SOD.

Analisis kemudian dilanjutkan dengan uji *post-hoc Mann-Whitney* untuk membandingkan pasangan kelompok yang menunjukkan perbedaan signifikan pada uji Kruskal-Wallis. Uji ini dipilih karena salah satu kelompok tidak berdistribusi normal, sehingga lebih sesuai digunakan untuk membandingkan dua kelompok independen tanpa asumsi distribusi normal.

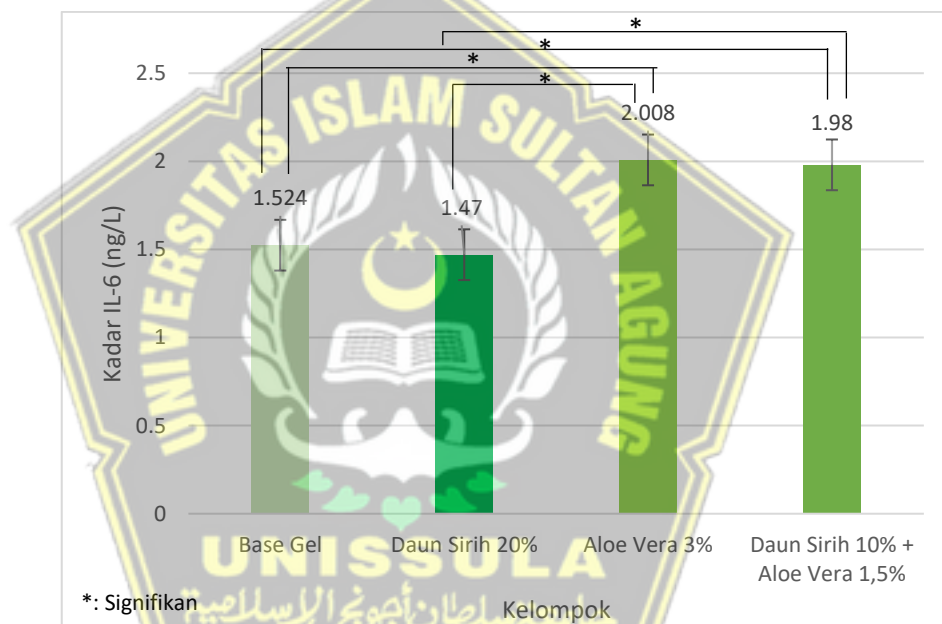
Tabel 5.4 Hasil Uji Post Hoc Mann Whitney setelah Perlakuan terhadap Rata-rata Kadar SOD

Kelompok	K1	K2	K3	K4
K1	-	0,465	0,016*	0,016*
K2		-	0,016*	0,016*
K3			-	0,917
K4				-

Keterangan: * Bermakna $p < 0,05$

Berdasarkan hasil uji *post-hoc Mann-Whitney* pada Tabel 5.4, Kelompok K1 (Base Gel) menunjukkan perbedaan signifikan dengan Kelompok K3 (Gel Aloe Vera 3%) dan Kelompok K4 (Daun Sirih 10%)

+ Aloe Vera 1,5%), dengan nilai $p=0,016$ pada keduanya, yang berarti kedua kelompok tersebut memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan K1. Kelompok K2 (Gel Daun Sirih 20%) juga menunjukkan perbedaan signifikan dengan Kelompok K3 (Gel Aloe Vera 3%) dan Kelompok K4 (Daun Sirih 10% + Aloe Vera 1,5%), dengan nilai $p=0,016$ pada kedua perbandingan ini, yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara kelompok-kelompok ini.

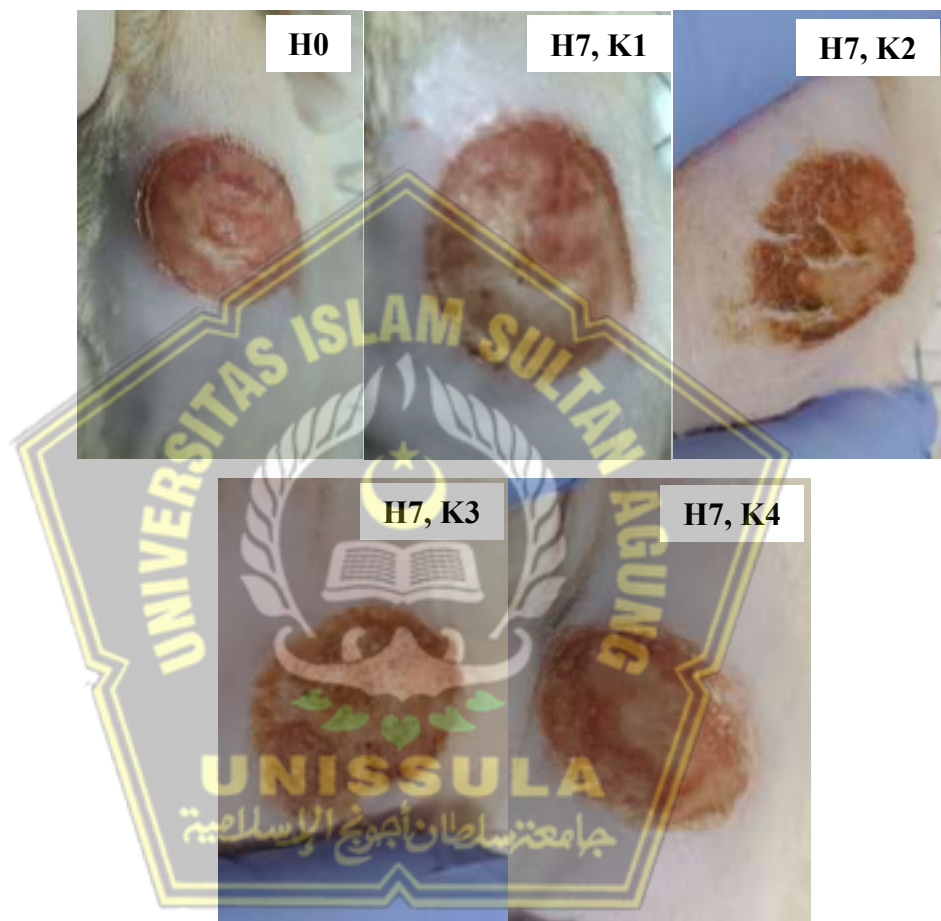


Gambar 5.3 Diagram Batang Kadar SOD setiap Kelompok

5.1.3. Gambaran Makroskopis pada Luka Eksisi Antar Kelompok

Observasi luka bakar secara makroskopis dilakukan untuk menilai kondisi luka pada setiap kelompok, baik sebelum maupun setelah perlakuan diberikan. Pemeriksaan ini bertujuan untuk memastikan bahwa proses pembuatan luka bakar dilakukan secara seragam di seluruh hewan percobaan, dengan memperhatikan keseragaman dalam

ukuran, bentuk, dan lokasi luka. Pengukuran kondisi luka dilakukan setiap hari mulai dari hari ke-0 (H0), yang merupakan hari induksi luka bakar, hingga hari ke-7 (H7) untuk memantau perkembangan penyembuhan luka secara terperinci.



Gambar 5.4 Gambaran Makroskopis Hari ke-0 (H0) dan Gambaran Makroskopis Luka Bakar II pada Hari ke-7 (H7) Antar Kelompok Perlakuan (K1: Luka Bakar + Base Gel; K2: Luka Bakar + Gel Daun Sirih 20%; K3: Luka Bakar + Gel Aloe Vera 3%; K4: Luka Bakar + Gel Kombinasi Daun Sirih 10% + Aloe Vera 1,5%)

Gambar 5.4 menampilkan perbandingan kondisi luka bakar pada hari ke-0 (H0) dan hari ke-7 (H7) dari empat kelompok perlakuan yang berbeda. Pada hari ke-0 tepat sesaat setelah pemberian luka bakar,

semua kelompok menunjukkan kondisi luka bakar yang serupa, dengan luka yang memiliki ukuran, bentuk, dan lokasi yang hampir sama. Luka pada setiap kelompok memperlihatkan area kulit yang terbakar, dengan warna kemerahan dan pembengkakan ringan di tepi luka, menandakan adanya peradangan. Di bagian tengah luka, terlihat perubahan warna yang lebih terang, mengindikasikan kerusakan jaringan pada lapisan epidermis akibat paparan panas. Luka juga tampak sedikit basah, kemungkinan karena cairan yang merembes akibat cedera pada kulit. Meskipun luka bakar ada di semua kelompok, tidak ada perbedaan yang mencolok pada hari pertama, karena seluruh luka masih berada pada tahap awal penyembuhan dengan tanda peradangan yang serupa di setiap kelompok.

Kelompok K2 (Base Gel) menunjukkan luka yang lebih kering, dengan permukaan yang lebih halus. Base Gel memberikan lapisan pelindung yang membantu menjaga kelembapan luka dan mengurangi pembengkakan serta peradangan di sekitar luka. Efek menenangkan dari Base Gel memberikan perbaikan yang positif pada kulit, mengurangi rasa panas dan nyeri pada luka bakar. Namun, meskipun ada tanda perbaikan, peradangan masih terlihat jelas di sekitar tepi luka, menunjukkan bahwa penyembuhan luka masih berlangsung dan membutuhkan waktu lebih lama.

Pada kelompok K2 (Gel Daun Sirih 20%), mulai terlihat perbedaan yang lebih jelas. Gel daun sirih memiliki efek anti-inflamasi yang

membantu mengurangi pembengkakan dan peradangan, meskipun luka masih menunjukkan tanda-tanda kerusakan pada lapisan kulit. Bagian tengah luka mulai menunjukkan tanda-tanda pengelupasan, menandakan awal dari proses penyembuhan. Meskipun demikian, inflamasi di sekitar tepi luka masih cukup jelas, menunjukkan bahwa luka masih dalam tahap pemulihan awal. Efek dari gel daun sirih mulai bekerja untuk menenangkan luka, namun hasil maksimalnya baru akan terlihat dalam beberapa hari mendatang.

Kelompok K3 (Gel Aloe Vera 3%) memperlihatkan luka yang lebih kering dan halus, dengan lapisan pelindung dari Aloe Vera yang mempercepat penyembuhan. Meski ada perbaikan di bagian tengah luka, tepi luka masih menunjukkan kemerahan dan sedikit pembengkakan, yang menunjukkan bahwa peradangan belum sepenuhnya hilang. Aloe Vera berfungsi untuk menjaga kelembapan luka, yang sangat penting untuk regenerasi sel kulit, meskipun luka ini masih dalam tahap penyembuhan.

Pada kelompok K4 (Daun Sirih 10% + Aloe Vera 1,5%), luka menunjukkan perkembangan yang cukup baik meskipun masih dalam tahap penyembuhan. Permukaan luka tampak lebih kering dibandingkan sebelumnya, dengan lapisan yang mulai mengeras dan sedikit mengelupas, menunjukkan bahwa jaringan yang rusak mulai terangkat. Warna luka di bagian tengah terlihat lebih terang, dengan sedikit kekuningan di sekitarnya, menandakan bahwa regenerasi kulit

sudah mulai terjadi. Meskipun ada tanda penyembuhan, peradangan di sekitar tepi luka masih terlihat, meskipun lebih sedikit dibandingkan pada tahap awal. Gel kombinasi ini bekerja efektif dalam menenangkan peradangan, menjaga kelembapan luka, dan mempercepat penyembuhan, serta mengurangi risiko infeksi.

Secara keseluruhan, meskipun semua kelompok menunjukkan perbaikan pada luka bakar, proses penyembuhan yang optimal masih memerlukan waktu lebih lama. Penggunaan berbagai jenis gel, seperti Base Gel, Gel Daun Sirih, dan Aloe Vera, memberikan efek yang berbeda pada setiap kelompok, dengan masing-masing memperlihatkan perkembangan yang signifikan. Namun, tanda-tanda peradangan, pengelupasan, dan perubahan warna menunjukkan bahwa luka bakar masih dalam tahap penyembuhan, dan durasi pengamatan perlu diperpanjang untuk memantau perkembangan lebih lanjut dan mengevaluasi efektivitas terapi dalam jangka panjang.

5.2. Pembahasan

Luka bakar merupakan cedera yang disebabkan oleh panas, listrik, bahan kimia, atau radiasi, dan dapat mempengaruhi kulit serta jaringan tubuh lainnya.⁴³ Luka bakar dapat merusak fungsi kulit, seperti perlindungan terhadap infeksi, pengaturan suhu tubuh, dan pencegahan kehilangan cairan. Proses penyembuhan luka bakar terdiri atas tiga fase utama, yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan remodelling. Fase inflamasi ditandai dengan peningkatan permeabilitas pembuluh darah yang memungkinkan sel imun membersihkan jaringan yang

rusak. Pada fase proliferasi, terjadi pembentukan jaringan granulasi serta migrasi sel epitel. Selanjutnya, fase remodelling berfokus pada pematangan kolagen dan pembentukan jaringan parut.⁴³ Gangguan pada fase-fase ini dapat memperlambat penyembuhan dan meningkatkan risiko infeksi atau pembentukan jaringan parut hipertrofik.

Interleukin-6 (IL-6) adalah sitokin proinflamasi yang berperan penting dalam respons imun tubuh terhadap cedera, termasuk luka bakar. IL-6 diproduksi oleh berbagai sel, termasuk makrofag, sel endotel, dan keratinosit, segera setelah cedera. Pada luka bakar, IL-6 berfungsi untuk merekrut sel-sel imun ke lokasi cedera, merangsang proliferasi sel epitel dan fibroblas, serta memfasilitasi sintesis protein fase akut di hati.⁴⁴ Meskipun IL-6 penting untuk memulai proses penyembuhan, kadar IL-6 yang tinggi dan berkepanjangan dapat berkontribusi pada inflamasi kronis dan pembentukan jaringan parut yang berlebihan. Oleh karena itu, regulasi kadar IL-6 yang tepat sangat penting untuk memastikan penyembuhan luka bakar yang efektif dan mencegah komplikasi jangka panjang.

Di sisi lain, untuk melawan kerusakan yang disebabkan oleh inflamasi tersebut, tubuh juga mengandalkan superoksida dismutase (SOD), enzim antioksidan yang berperan dalam melindungi sel dari kerusakan oksidatif. SOD mengkatalisis konversi radikal bebas superoksida menjadi hidrogen peroksida dan oksigen, yang sangat penting pada luka bakar, di mana stres oksidatif meningkat akibat produksi radikal bebas yang berlebihan, yang dapat merusak membran sel, protein, dan DNA. Aktivitas SOD yang adekuat penting untuk menetralkan radikal bebas ini dan mendukung proses penyembuhan luka.

Penurunan aktivitas SOD dapat memperlambat penyembuhan luka bakar dan meningkatkan risiko infeksi serta pembentukan jaringan parut.⁴⁵ Oleh karena itu, terapi yang dapat meningkatkan aktivitas SOD, seperti pemberian gel yang mengandung bahan dengan aktivitas antioksidan, berpotensi untuk mempercepat proses penyembuhan luka bakar dan mengurangi komplikasi terkait stres oksidatif.

Pada penelitian ini, kelompok yang diberikan Gel Aloe Vera 3% menunjukkan kadar IL-6 terendah dengan rata-rata $1,822 \pm 0,264$ ng/L, yang mengindikasikan bahwa Aloe Vera memiliki kemampuan untuk mengurangi peradangan pada luka bakar. Penurunan kadar IL-6 pada kelompok yang diberi Gel Aloe Vera 3% menunjukkan bahwa Aloe Vera dapat membantu mengatur respon inflamasi dan mendukung penyembuhan luka yang lebih cepat.

Gel Aloe Vera 3% menunjukkan perbedaan signifikan secara statistik dibandingkan dengan Base Gel dengan nilai $p < 0,001$ pada uji *post-hoc Tamhane*. Perbedaan signifikan ini dapat dijelaskan oleh efek anti-inflamasi dari Gel Aloe Vera 3%. Aloe Vera mengandung senyawa bioaktif seperti polisakarida, emodin, dan aloin, yang memiliki kemampuan untuk menurunkan kadar sitokin proinflamasi seperti IL-6.⁴⁶ Senyawa-senyawa ini bekerja dengan menghambat jalur pensinyalan inflamasi, seperti NF- κ B, yang berperan dalam regulasi ekspresi IL-6.⁴⁶ Senyawa seperti aloin dan emodin menunjukkan aktivitas anti-inflamasi dengan mengurangi produksi sitokin proinflamasi seperti IL-6, TNF- α , serta molekul lainnya seperti NO, MPO, dan MDA.⁴⁷ Selain itu, aloin juga menghambat jalur pensinyalan JAK1-STAT1/3 yang dimediasi oleh spesies

oksigen reaktif (ROS), yang pada gilirannya mengurangi produksi IL-6 pada sel makrofag yang diinduksi lipopolisakarida (LPS).⁴⁸ Secara keseluruhan, mekanisme ini mengurangi peradangan dan mendukung proses penyembuhan luka.

Sebaliknya, Base Gel yang tidak mengandung bahan aktif, tidak memberikan efek serupa dalam mengurangi kadar IL-6. Meskipun Base Gel berfungsi sebagai pelindung luka dengan menjaga kelembapan, ia tidak memiliki kemampuan untuk mengatasi peradangan atau meredakan respon inflamasi yang terjadi setelah luka bakar. Oleh karena itu, perbedaan yang signifikan ini menunjukkan bahwa Aloe Vera 3% lebih efektif dalam mengurangi peradangan dan mempercepat proses penyembuhan luka bakar dibandingkan dengan Base Gel.

Kelompok K4 (Daun Sirih 10% + Aloe Vera 1,5%) menunjukkan kadar IL-6 terendah kedua setelah kelompok Gel Aloe Vera 3%, yaitu $2,046 \pm 0,621$ ng/L, yang mengindikasikan bahwa kombinasi kedua bahan aktif ini cukup efektif dalam menurunkan kadar IL-6 pada luka bakar.

Kombinasi daun sirih dan Aloe vera dalam menurunkan IL-6 melibatkan sifat anti-inflamasi dan antioksidan yang dimiliki kedua bahan ini. Di sisi lain, daun sirih (*Piper betle*) juga dikenal memiliki sifat anti-inflamasi yang kuat. Eugenol, salah satu senyawa utama dalam daun sirih, memiliki aktivitas anti-inflamasi dengan menghambat ekspresi sitokin proinflamasi seperti IL-6 dan TNF- α . Penelitian menunjukkan bahwa eugenol menurunkan ekspresi COX-2 dan mengurangi produksi prostaglandin E₂ pada sel makrofag yang diinduksi

lipopolisakarida (LPS).⁴⁹ Selain itu, flavonoid dalam daun sirih berperan dalam menekan ekspresi IL-6 dan sitokin proinflamasi lainnya. Flavonoid diketahui memiliki aktivitas anti-inflamasi melalui penghambatan jalur pensinyalan inflamasi dan pengurangan produksi spesies oksigen reaktif (ROS).⁵⁰

Kombinasi antara Aloe vera dan daun sirih memberikan efek sinergis dalam mengatur proses inflamasi dan oksidatif pada luka bakar. Aloe vera membantu menenangkan luka dan mengurangi peradangan dengan mengatur produksi IL-6 melalui penghambatan jalur inflamasi, sementara daun sirih berfungsi sebagai agen anti-inflamasi dan antioksidan yang memperkuat efek tersebut. Oleh karena itu, kombinasi kedua bahan ini mampu menurunkan kadar IL-6.

Pada luka bakar, produksi radikal bebas meningkat secara signifikan akibat stres oksidatif yang terjadi akibat paparan panas. Stres oksidatif ini dapat merusak membran sel, protein, dan DNA, yang memperlambat proses penyembuhan dan meningkatkan risiko infeksi. SOD berfungsi untuk menetralkan radikal bebas dan melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan lebih lanjut.

Kadar SOD yang cukup tinggi pada luka bakar dapat membantu mengurangi kerusakan seluler dan mempercepat regenerasi jaringan. Aktivitas SOD juga memfasilitasi proses inflamasi yang terkendali, yang memungkinkan tubuh untuk memperbaiki jaringan yang rusak tanpa memicu reaksi inflamasi berlebihan.⁵¹ Kelompok K3 (Gel Aloe Vera 3%) menunjukkan kadar SOD rata-rata $2,008 \pm 0,279$ ng/L, yang merupakan kadar tertinggi di antara kelompok lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa Aloe Vera 3% memiliki kemampuan dalam

meningkatkan aktivitas SOD pada luka bakar, yang berperan penting dalam mengurangi stres oksidatif dan mempercepat penyembuhan luka. Aloe Vera mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti polisakarida, aloin, dan emodin, yang telah terbukti memiliki efek antioksidan yang kuat. Senyawa-senyawa ini bekerja dengan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seperti SOD, yang membantu mengurangi kerusakan akibat radikal bebas yang dihasilkan oleh luka bakar.⁴⁷

Peningkatan kadar SOD pada kelompok K3 menunjukkan bahwa Aloe Vera tidak hanya membantu menjaga kelembapan luka, tetapi juga meningkatkan kapasitas tubuh untuk melawan kerusakan seluler akibat stres oksidatif. Dalam hal ini, efek antioksidan Aloe Vera tidak hanya mengurangi kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas, tetapi juga berperan dalam mengurangi inflamasi berlebihan, mempercepat regenerasi jaringan, dan mengurangi pembentukan jaringan parut.

Kelompok K4 (Daun Sirih 10% + Aloe Vera 1,5%) menunjukkan nilai SOD tertinggi kedua, yaitu $1,980 \pm 0,200$ ng/L, yang menunjukkan bahwa kombinasi daun sirih dan Aloe Vera memiliki efek yang signifikan dalam meningkatkan aktivitas SOD pada luka bakar. Kadar SOD yang lebih tinggi ini mengindikasikan bahwa kombinasi kedua bahan tersebut memiliki efek sinergis yang mempercepat penyembuhan luka dengan cara mengurangi stres oksidatif yang terjadi akibat paparan radikal bebas.

Kombinasi antara daun sirih dan Aloe Vera pada kelompok K4 menunjukkan hasil sinergis dalam meningkatkan aktivitas SOD. Aloe Vera

memberikan efek menenangkan dan mempercepat regenerasi sel, sementara daun sirih mengurangi inflamasi dan meningkatkan kapasitas tubuh untuk menangkal kerusakan akibat radikal bebas. Efek gabungan ini membantu memperbaiki proses penyembuhan luka bakar dengan mengurangi stres oksidatif dan meningkatkan aktivitas SOD.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, gel Aloe Vera 3% terbukti menjadi dosis yang optimal untuk penyembuhan luka bakar, yang dilihat dari dua parameter utama, yaitu penurunan kadar IL-6 dan peningkatan aktivitas SOD. Gel Aloe Vera 3% terbukti mampu menurunkan kadar IL-6 serta meningkatkan aktivitas SOD dibandingkan kelompok perlakuan lainnya, sehingga diharapkan dapat mengurangi peradangan, melawan stres oksidatif dan mendukung regenerasi jaringan. Dosis ini menunjukkan keseimbangan yang baik antara mengurangi peradangan dan mempercepat penyembuhan luka bakar, menjadikannya pilihan yang efektif dalam terapi luka bakar. Namun, kelompok gel kombinasi ekstrak daun sirih dan aloe vera juga menunjukkan potensi dalam penyembuhan luka.

Penggunaan serum darah sebagai sampel dalam penelitian ini dipilih karena beberapa alasan yang berkaitan dengan kemudahan, keamanan, dan representativitas hasil yang diperoleh. Serum darah mengandung berbagai biomarker yang dapat mencerminkan kondisi sistemik tubuh, termasuk respons imun dan inflamasi, tanpa memerlukan prosedur invasif yang lebih rumit seperti pengambilan sampel jaringan.⁵² Salah satu alasan utama penggunaan serum adalah untuk mengukur kadar sitokin seperti IL-6 dan enzim SOD, yang

biasanya beredar dalam darah dan dapat memberikan gambaran umum tentang reaksi peradangan dan stres oksidatif yang terjadi di seluruh tubuh.

Selain itu, pengambilan sampel darah lebih sederhana dan minim risiko dibandingkan dengan pengambilan sampel jaringan, yang memerlukan prosedur bedah atau biopsi yang lebih kompleks.⁵³ Pengambilan darah juga memungkinkan untuk pemantauan yang lebih mudah dan berulang, yang penting dalam studi jangka panjang untuk menilai dinamika perubahan kadar biomarker selama proses penyembuhan luka.⁵⁴ Serum darah juga memberikan data yang lebih konsisten karena lebih homogen dan mudah untuk dianalisis dibandingkan dengan jaringan yang mungkin memiliki variasi lokal yang lebih besar.

Dalam konteks penelitian luka bakar, meskipun sampel jaringan dapat memberikan informasi lebih spesifik mengenai respon lokal di area luka, penggunaan serum darah memungkinkan pengukuran biomarker inflamasi dan antioksidan secara lebih sistematis dan representatif dari keseluruhan tubuh. Serum darah memberikan gambaran yang lebih luas tentang bagaimana tubuh merespons stres oksidatif dan peradangan secara keseluruhan, yang relevan untuk memahami efek terapi topikal pada sistemik proses penyembuhan luka.

Meskipun serum darah memberikan gambaran menyeluruh tentang respons tubuh terhadap stres oksidatif dan peradangan, faktor-faktor seperti ketidakhomogenan data antar kelompok dapat mempengaruhi hasil penelitian yang dilakukan. Variasi dalam respon biologis antar individu (misalnya, metabolisme dan respons imun) bisa menyebabkan perbedaan hasil. Hal ini

berpotensi disebabkan oleh perbedaan dalam penyerapan, metabolisme, dan mekanisme aksi bahan aktif yang digunakan dalam perlakuan.

Faktor lainnya yang dapat memengaruhi hasil penelitian adalah durasi pengobatan dan waktu pengambilan sampel. Pengamatan yang dilakukan hanya dalam periode 7 hari mungkin belum cukup untuk melihat efek maksimal dari perlakuan, terutama jika penyembuhan luka bakar memerlukan waktu yang lebih lama untuk mencapai hasil yang optimal. Oleh karena itu, durasi yang lebih lama mungkin memberikan gambaran yang lebih akurat tentang efektivitas terapi dalam jangka panjang.

Untuk penelitian selanjutnya, disarankan untuk memperpanjang durasi pengamatan untuk melihat efek terapi dalam jangka waktu yang lebih lama. Hal ini penting untuk mendapatkan gambaran yang lebih komprehensif mengenai proses penyembuhan luka bakar dan efektivitas perlakuan dalam tahap-tahap akhir penyembuhan, seperti fase remodeling yang memerlukan waktu lebih panjang.

Selain itu, disarankan untuk melakukan analisis histopatologis pada sampel jaringan luka untuk memberikan gambaran yang lebih mendalam mengenai perubahan mikrostruktur kulit yang terjadi selama penyembuhan. Hal ini dapat melengkapi data yang diperoleh dari serum darah dan memberikan informasi yang lebih spesifik tentang bagaimana perlakuan mempengaruhi proses penyembuhan pada tingkat sel dan jaringan.

Penelitian lebih lanjut juga dapat mengeksplorasi kombinasi bahan aktif lainnya dengan Aloe Vera dan daun sirih untuk melihat apakah ada efek sinergis

yang lebih kuat dalam mempercepat penyembuhan luka bakar. Menambah variasi pada konsentrasi dan formulasi gel yang digunakan dalam penelitian dapat memberikan wawasan lebih lanjut mengenai dosis yang paling efektif untuk pengobatan luka bakar.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Gel kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) tidak mempengaruhi kadar IL-6 secara statistik, tetapi terbukti memberikan pengaruh signifikan terhadap kadar SOD pada luka bakar derajat II pada tikus Wistar.
2. Gel kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) menurunkan kadar IL-6 pada luka bakar derajat II, meskipun penurunan tersebut tidak signifikan secara statistik.
3. Gel Kombinasi Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*) dan Aloe Vera (*Aloe barbadensis*) terbukti mampu meningkatkan kadar SOD secara signifikan pada luka bakar derajat II.

6.2 Saran

1. Melakukan penelitian lanjutan dengan durasi yang lebih panjang untuk mengamati efek jangka panjang dari penggunaan Gel Aloe Vera 3% dan kombinasi daun sirih dan Aloe Vera dalam penyembuhan luka bakar.
2. Menggunakan metode histopatologi untuk memeriksa perubahan jaringan pada luka bakar, guna memberikan gambaran lebih mendalam mengenai proses penyembuhan dan perbaikan jaringan.
3. Memperluas sampel penelitian guna meningkatkan representasi hasil dan validitas data yang lebih komprehensif.

4. Mengeksplorasi kombinasi dengan bahan aktif lainnya yang berpotensi meningkatkan efek anti-inflamasi dan antioksidan pada luka bakar, untuk mempercepat proses penyembuhan dan mengurangi peradangan.



DAFTAR PUSTAKA

1. Budiman A, Khoerunnisa R, A. TQ. Wound-Healing Test Of Piper Betle Leaf Extract And Aloe Vera In Gel Preparation. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 2018 May 7;86–91.
2. Gille J, Jocovic J, Kremer T, Sablotzki A. The predictive role of Interleukin 6 in burn patients with positive blood cultures [Internet]. Vol. 11, *Int J Burn Trauma*. 2021. Available from: www.IJBT.org
3. Chelu M, Musuc AM, Popa M, Calderon Moreno J. Aloe vera-Based Hydrogels for Wound Healing: Properties and Therapeutic Effects. Vol. 9, *Gels*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023.
4. Moh Rozani, Denny Susanto, Mohammad Fauzi, Adrian Sali. Wound Treatment Using Aloevera in the Process of Accelerating Wound Healing for Post-Op Patients at the Lompe Ntodea Community Health Center. *STRADA Jurnal Ilmiah Kesehatan*. 2024 May 30;13(1):38–44.
5. Parihar A, Parihar MS, Milner S, Bhat S. Oxidative stress and anti-oxidative mobilization in burn injury. *Burns*. 2008 Feb;34(1):6–17.
6. Hong Y, Boiti A, Vallone D, Foulkes NS. Reactive Oxygen Species Signaling and Oxidative Stress: Transcriptional Regulation and Evolution. *Antioxidants*. 2024;13(3).
7. Zhu Y, Shi R, Lu W, Shi S, Chen Y. Framework nucleic acids as promising reactive oxygen species scavengers for anti-inflammatory therapy. *Nanoscale*. 2024;16(15):7363–77.
8. Pradeep A, Mathew AI, Vemula PK, Bhat SG, Narayanan S. Investigating the pro-inflammatory differentiation of macrophages with bacterial ghosts in potential infection control. *Arch Microbiol*. 2024;206(8):361.
9. Yuniarti E. Pengaruh Latihan Submaksimal Terhadap Kadar Interleukin-6 Pada Siswa Pusat Pendidikan Latihan Pelajar Sumatera Barat. *Jurnal Sainstek* Vol VI No 2: 189-192, Desember 2014. 2014;VI(2):189–92.
10. Niu W, Liu Y, Qi Y, Wu Z, Zhu D, Jin W. Association of interleukin-6 circulating levels with coronary artery disease: a meta-analysis implementing mendelian randomization approach. *Int J Cardiol*. 2012 May;157(2):243–52.
11. Johnson BZ, Stevenson AW, Prêle CM, Fear MW, Wood FM. The role of IL-6 in skin fibrosis and cutaneous wound healing. *Biomedicines*. 2020;8(5):1–18.
12. Ackermann J, Arndt L, Fröba J, Lindhorst A, Glaß M, Kirstein M, et al. IL-6 signaling drives self-renewal and alternative activation of adipose tissue macrophages. *Front Immunol*. 2024;15(February):1–13.
13. Wang Y, Branicky R, Noë A, Hekimi S. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *Journal of Cell Biology*. 2018;217(6):1915–28.
14. Tylutka A, Walas Ł, Zembron-Lacny A. Level of IL-6, TNF, and IL-1 β and age-related diseases: a systematic review and meta-analysis. *Front Immunol*. 2024;15(March):1–12.

15. Dong Y, Wang Z. ROS-scavenging materials for skin wound healing: advancements and applications. 2023;(December):1–17.
16. Zheng M, Liu Y, Zhang G, Yang Z, Xu W, Chen Q. The Applications and Mechanisms of Superoxide Dismutase in Medicine, Food, and Cosmetics. *Antioxidants*. 2023;12(9).
17. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*. 2018;54(4):287–93.
18. He X, Li Y, Deng B, Lin A, Zhang G, Ma M, et al. The PI3K/AKT signalling pathway in inflammation, cell death and glial scar formation after traumatic spinal cord injury: Mechanisms and therapeutic opportunities. *Cell Prolif*. 2022;55(9):1–21.
19. Karar J, Maity A. PI3K/AKT/mTOR Pathway in Angiogenesis. *Front Mol Neurosci*. 2011;4(December):1–8.
20. Kaewsrisung S, Sukpat S, Issarasena N, Patumraj S, Somboonwong J. The effects of oral Aloe vera on the efficacy of transplanted human endothelial cells and the expression of matrix metalloproteinases in diabetic wound healing. *Heliyon* [Internet]. 2021;7(12):e08533. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08533>
21. Sánchez M, González-Burgos E, Iglesias I, Gómez-Serranillos MP. Pharmacological update properties of aloe vera and its major active constituents. *Molecules*. 2020;25(6):1–37.
22. Nayaka NMDMW, Sasadara MMV, Sanjaya DA, Yuda PESK, Dewi NLKAA, Cahyaningsih E, et al. Piper betle (L): Recent review of antibacterial and antifungal properties, safety profiles, and commercial applications. *Molecules*. 2021;26(8):1–21.
23. Chamarthi B, Williams GH, Ricchiuti V, Srikumar N, Hopkins PN, Luther JM, et al. Inflammation and hypertension: the interplay of interleukin-6, dietary sodium, and the renin-angiotensin system in humans. *Am J Hypertens*. 2011 Oct;24(10):1143–8.
24. Lotfollahi Z. The anatomy, physiology and function of all skin layers and the impact of ageing on the skin. *Wound Practice and Research*. 2024;32(1):6–10.
25. Jeschke MG, van Baar ME, Choudhry MA, Chung KK, Gibran NS, Logsetty S. Burn injury. *Nat Rev Dis Primers*. 2020;6(1).
26. Korkmaz HI, Flokstra G, Waasdorp M, Pijpe A, Papendorp SG, de Jong E, et al. The Complexity of the Post-Burn Immune Response: An Overview of the Associated Local and Systemic Complications. *Cells*. 2023;12(3):1–21.
27. Landén NX, Li D, Ståhle M. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2016;73(20):3861–85.
28. Widowati L, HAndayani L, Mujahid R. The use of betel (Piper betle) leaves for maintaining the health of women and children at various ethnic groups in Indonesia. *Nusantara Bioscience*. 2020;12(2):120–6.

29. Kumar S, Juyal A, Bisht S, Jaiswal V. Betel leaf (*Piper betle*): Ethnomedicine to emerging therapeutic frontiers. *J Pharmacogn Phytochem*. 2024;13(2):249–58.
30. Sánchez M, González-Burgos E, Iglesias I, Gómez-Serranillos MP. Pharmacological update properties of aloe vera and its major active constituents. *Molecules*. 2020;25(6):1–37.
31. Upul G, Kumara A, Mudiyanse W, Ruvinika D, Wadimuna W, Rajini W, et al. Pharmaceutical, nutritional and cosmetic applications of Aloe vera plant. ~ 32 ~ *International Journal of Herbal Medicine*. 2021;9(4):32–6.
32. Comish PB, Carlson D, Kang R, Tang D. Damage-Associated Molecular Patterns and the Systemic Immune Consequences of Severe Thermal Injury. *The Journal of Immunology*. 2020;205(5):1189–97.
33. Bolourani S, Brenner M, Wang P. The interplay of DAMPs, TLR4, and proinflammatory cytokines in pulmonary fibrosis. *J Mol Med*. 2021;99(10):1373–84.
34. Saleh DO, Baraka SM, Jaleel GAA, Hassan A, Ahmed-Farid OA. Eugenol alleviates acrylamide-induced rat testicular toxicity by modulating AMPK/p-AKT/mTOR signaling pathway and blood–testis barrier remodeling. *Sci Rep*. 2024;14(1).
35. Xian M, Cai J, Zheng K, Liu Q, Liu Y, Lin H, et al. Aloe-emodin prevents nerve injury and neuroinflammation caused by ischemic stroke via the PI3K/AKT/mTOR and NF- κ B pathway. *Food Funct*. 2021 Sep;12(17):8056–67.
36. Xian M, Cai J, Zheng K, Liu Q, Liu Y, Lin H, et al. Aloe-emodin prevents nerve injury and neuroinflammation caused by ischemic stroke via the PI3K/AKT/mTOR and NF- κ B pathway. *Food Funct*. 2021 Sep;12(17):8056–67.
37. Saleh DO, Baraka SM, Jaleel GAA, Hassan A, Ahmed-Farid OA. Eugenol alleviates acrylamide-induced rat testicular toxicity by modulating AMPK/p-AKT/mTOR signaling pathway and blood–testis barrier remodeling. *Sci Rep* [Internet]. 2024;14(1). Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-52259-1>
38. Darmawan A, Yusuf S, Tahir T, Syahriyani S. STRADA Jurnal Ilmiah Kesehatan Betel Leaf Extract Efficacy on Wound Healing: A Systematic review STRADA Jurnal Ilmiah Kesehatan. *STRADA Jurnal Ilmiah Kesehatan*. 2021;10(1):526–36.
39. Suharto IPS, Ramayanti ED, Yunalia EM, Ulfa N. Betel Leaf Extract's Effect (*Piper Batle* Linn) on The Healing Process of Incision Wounds in Rats (*Rattus Norvegicus*). *Jurnal Pendidikan Keperawatan Indonesia*. 2021;7(2):123–8.
40. Nayaka NMDMW, Sasadara MMV, Sanjaya DA, Yuda PESK, Dewi NLKAA, Cahyaningsih E, et al. Piper betle (L): Recent review of antibacterial and antifungal properties, safety profiles, and commercial applications. *Molecules*. 2021;26(8):1–21.
41. Movaffagh J, khatib M, Fazly Bazzaz BS, Taherzadeh Z, Hashemi M, Seyedian Moghaddam A, et al. Evaluation of wound-healing efficiency of a

- functional Chitosan/Aloe vera hydrogel on the improvement of re-epithelialization in full thickness wound model of rat. *J Tissue Viability*. 2022 Nov;31(4):649–56.
42. Khan A, Andleeb A, Azam M, Tehseen S, Mehmood A, Yar M. Aloe vera and ofloxacin incorporated chitosan hydrogels show antibacterial activity, stimulate angiogenesis and accelerate wound healing in full thickness rat model. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2023 Feb 2;111(2):331–42.
 43. Jeschke MG, van Baar ME, Choudhry MA, Chung KK, Gibran NS, Logsetty S. Burn injury. *Nat Rev Dis Primers* [Internet]. 2020;6(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41572-020-0145-5>
 44. Korkmaz HI, Flokstra G, Waasdorp M, Pijpe A, Papendorp SG, de Jong E, et al. The Complexity of the Post-Burn Immune Response: An Overview of the Associated Local and Systemic Complications. *Cells*. 2023 Jan 17;12(3):345.
 45. Ukaegbu K, Allen E, Svoboda KKH. Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Wound Healing: Mechanisms and Therapeutic Potential. *Int Wound J*. 2025 May;22(5):e70330.
 46. Sánchez M, González-Burgos E, Iglesias I, Gómez-Serranillos MP. Pharmacological Update Properties of Aloe Vera and its Major Active Constituents. *Molecules*. 2020 Mar 13;25(6):1324.
 47. Mensah EO, Adadi P, Asase RV, Kelvin O, Mozhdehi FJ, Amoah I, et al. Aloe vera and its byproducts as sources of valuable bioactive compounds: Extraction, biological activities, and applications in various food industries. *PharmaNutrition*. 2025 Mar;31:100436.
 48. Ma Y, Tang T, Sheng L, Wang Z, Tao H, Zhang Q, et al. Aloin suppresses lipopolysaccharide-induced inflammation by inhibiting JAK1-STAT1/3 activation and ROS production in RAW264.7 cells. *Int J Mol Med*. 2018 Jul 31;
 49. Gojani EG, Wang B, Li DP, Kovalchuk O, Kovalchuk I. Anti-Inflammatory Properties of Eugenol in Lipopolysaccharide-Induced Macrophages and Its Role in Preventing β -Cell Dedifferentiation and Loss Induced by High Glucose-High Lipid Conditions. *Molecules*. 2023 Nov 16;28(22):7619.
 50. Kariagina A, Doseff AI. Anti-Inflammatory Mechanisms of Dietary Flavones: Tapping into Nature to Control Chronic Inflammation in Obesity and Cancer. *Int J Mol Sci*. 2022 Dec 12;23(24):15753.
 51. Lopes FB, Sarandy MM, Novaes RD, Valacchi G, Gonçalves RV. OxInflammatory Responses in the Wound Healing Process: A Systematic Review. Vol. 13, Antioxidants. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024.
 52. Ungaro CT. Comparative Analysis of Serum Cytokine ELISA and Multiplex Techniques. *Biomed J Sci Tech Res*. 2020;32(5):25325–30.
 53. Ilić M, Hofman P. Pros: Can tissue biopsy be replaced by liquid biopsy? *Transl Lung Cancer Res*. 2016 Aug;5(4):420–3.
 54. Nikanjam M, Kato S, Kurzrock R. Liquid biopsy: current technology and clinical applications. *J Hematol Oncol*. 2022 Sep 12;15(1):131.