

**PENGARUH PEMBERIAN GEL EKSTRAK JINTAN
PUTIH TERHADAP KADAR INTERLUKIN-1 β DAN
KADAR VEGF**

**(Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur Wistar
Model Luka Eksisi)**

TESIS

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



Magister Ilmu Biomedik

**Arum Puspita Dewi
MBK. 2423010430**

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

HALAMAN PENGESAHAN

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN GEL EKSTRAK JINTAN PUTIH
TERHADAP KADAR INTERLUKIN-1 β DAN KADAR VEGF
(Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur Wistar Model
Luka Eksisi)**

disusun oleh:

Arum Puspita Dewi
MBK. 2423010430

akan dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 26 Agustus 2025
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II



Dr. dr. Danis Pertiwi, M.Si.Med, Sp.PK
NIK. 210199051

Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes
NIK. 210198046

Mengetahui,

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



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

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan 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.

Semarang, 11 Agustus 2025



(Arum Puspita Dewi)

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Arum Puspita Dewi
Tempat/ Tanggal Lahir : Purworejo, 27 Mei 1990
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK Artha Kencana : Lulus tahun 1995
2. SD Pangen Juru Tengah III : Lulus tahun 2001
3. SMP N 1 Purworejo : Lulus tahun 2004
4. SMA N 7 Purworejo : Lulus tahun 2007
5. S1 Fakultas Kedokteran UMY Yogyakarta : Lulus tahun 2011
6. Profesi Dokter UMY Yogyakarta : Lulus tahun 2013
7. Magister Ilmu Biomedis FK UNISSULA : 2024 – sekarang

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Suami : dr. Masyi Wimby Johandhika, Sp. KJ
2. Nama Anak : Alvaronizam Faeyza
Albarra Ahmad Gasendra

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas rahmat dan karunia-Nya, sehingga tesis ini yang berjudul "**Pengaruh Gel Ekstrak Jintan Putih terhadap Kadar Interleukin-1 β dan Kadar VEGF (Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur Wistar Model Luka Eksisi)**" dapat diselesaikan sebagai salah satu syarat mencapai gelar Magister Ilmu Biomedik di Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Gunarto, S.H., M.Hum. selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang beserta Wakil Rektor yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menempuh dan menyelesaikan pendidikan Magister Biomedik.
1. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.F selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, sekaligus Dosen Penguji I yang telah memberikan pengarahan dan masukan untuk perbaikan tesis ini.
2. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS, selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik, sekaligus Dosen Penguji III yang telah memberikan dukungan akademik, pengarahan dan masukan untuk perbaikan tesis ini.
3. Dr. dr. Danis Pertiwi, M.Si.Med, Sp.PK, selaku pembimbing I, yang dengan tulus telah memberikan banyak perhatian, waktu, kritik, saran, serta motivasi yang membangun bagi penulis selama penyusunan tesis ini.

4. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes, selaku pembimbing II, yang telah memberikan bimbingan, masukan, arahan, serta dukungan yang berarti, sehingga membantu penulis dalam proses penyusunan dan penyelesaian tesis ini.
5. Prof. Dr. Siti Thomas Zulaikhah, SKM., M.Kes, selaku Dosen Penguji II, yang telah memberi banyak masukan dan arahan, serta saran perbaikan yang sangat berharga demi penyempurnaan tesis ini.
6. Para dosen dan staf pengajar Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang telah memberikan ilmu dan wawasan selama masa studi.
7. Keluarga tercinta, atas doa, dukungan, dan semangat yang senantiasa menyertai penulis, khususnya kepada suami tercinta dr. Masyi Wimby Johandhika, Sp.KJ serta orang tua yang selalu memberikan kasih sayang, pengorbanan, dan dorongan tanpa henti.
8. Rekan-rekan seperjuangan, atas kerja sama, motivasi, dan kebersamaan selama proses penyusunan tesis ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan kelemahan dalam penyusunan tesis ini, sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan agar tesis ini dapat menjadi lebih baik. Akhir kata penulis mengucapkan banyak terima kasih. Semoga tesis ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu biomedik dan penelitian terkait.

Semarang, 11 Agustus 2025

Arum Puspita Dewi

ABSTRAK

Latar Belakang: Penyembuhan luka melibatkan proses biologis kompleks, dengan Interleukin-1 beta (IL-1 β) dan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) yang berperan penting dalam inflamasi dan angiogenesis. Jintan putih (*Cuminum cyminum* L.) memiliki sifat antiinflamasi, namun pengaruhnya terhadap IL-1 β dan VEGF dalam penyembuhan luka masih terbatas. Penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh pemberian gel ekstrak jintan putih terhadap kadar IL-1 β dan VEGF pada luka eksisi tikus Wistar jantan.

Metode: Penelitian eksperimental *in vivo post-test only control group design* dengan model luka eksisi pada 25 ekor tikus Wistar jantan, dibagi menjadi 5 kelompok: Kelompok Sehat, Kontrol Negatif, Kontrol Positif (*povidone iodine*), Gel EJP 10%, dan Gel EJP 20%. Induksi luka eksisi sebesar 8mm dan pengamatan makroskopis selama 5 hari. Pengambilan sampel jaringan dilakukan pada hari ke-6, diikuti pengukuran kadar IL-1 β dan VEGF menggunakan ELISA.

Hasil: Rata-rata kadar IL-1 β tertinggi diperoleh pada Kelompok Gel EJP 20% (20,742 \pm 1,343 ng/mL) dan tidak berbeda signifikan terhadap kelompok Kontrol Negatif ($p=0,541$). Kelompok Gel EJP 10% dan Gel EJP 20% menunjukkan kadar VEGF yang tinggi, masing-masing 1387,98 \pm 108,80 ng/mL dan 1423,44 \pm 77,47 ng/mL, dengan perbedaan signifikan dibandingkan dengan kelompok Kontrol Negatif ($p<0,001$).

Kesimpulan: Pemberian gel ekstrak jintan putih tidak berpengaruh secara signifikan terhadap kadar IL-1 β , namun pemberian gel EJP 10% dan gel EJP 20% berpengaruh signifikan terhadap peningkatan kadar VEGF pada luka eksisi tikus Wistar jantan.

Kata Kunci: jintan putih, IL-1 β , VEGF, luka eksisi, tikus Wistar.

ABSTRACT

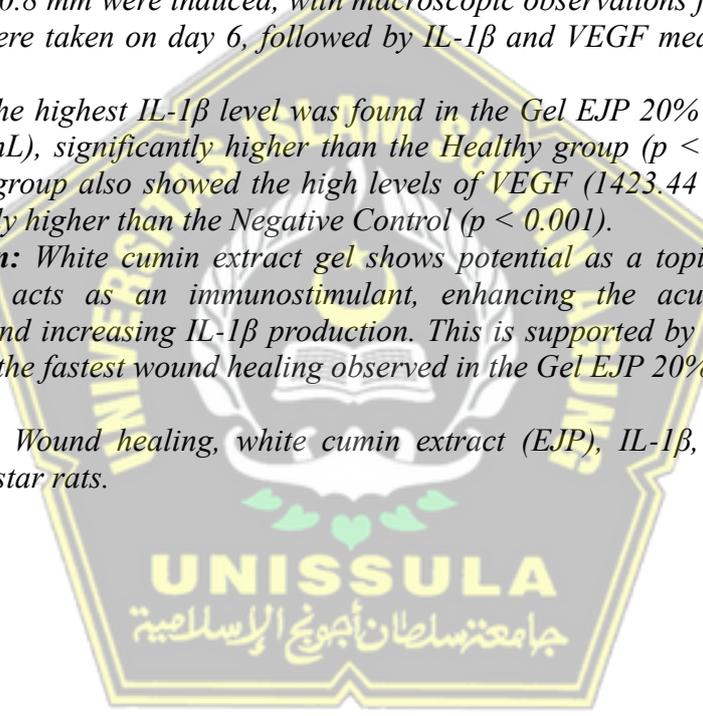
Background: Wound healing involves complex biological processes, with Interleukin-1 beta (IL-1 β) and Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) playing crucial roles in inflammation and angiogenesis. *Cuminum cyminum* L. (cumin) has anti-inflammatory properties, but its effect on IL-1 β and VEGF in wound healing remains limited. This study aims to evaluate the effect of white cumin extract gel on IL-1 β and VEGF levels in excision wounds in male Wistar rats.

Methods: An experimental *in vivo* post-test only control group design was used with 25 male Wistar rats, divided into 5 groups: Healthy, Negative Control, Positive Control (povidone iodine), Gel EJP 10%, and Gel EJP 20%. Excision wounds of 0.8 mm were induced, with macroscopic observations for 5 days. Tissue samples were taken on day 6, followed by IL-1 β and VEGF measurements using ELISA.

Results: The highest IL-1 β level was found in the Gel EJP 20% group (20.742 ± 1.343 ng/mL), significantly higher than the Healthy group ($p < 0.001$). The Gel EJP 20% group also showed the high levels of VEGF (1423.44 ± 77.47 ng/mL), significantly higher than the Negative Control ($p < 0.001$).

Conclusion: White cumin extract gel shows potential as a topical therapy. Gel EJP 20% acts as an immunostimulant, enhancing the acute inflammatory response and increasing IL-1 β production. This is supported by increased VEGF levels and the fastest wound healing observed in the Gel EJP 20% group.

Keywords: Wound healing, white cumin extract (EJP), IL-1 β , VEGF, excision wound, Wistar rats.



UNISSULA
جامعة سلطان أبوبوع الإسلامية

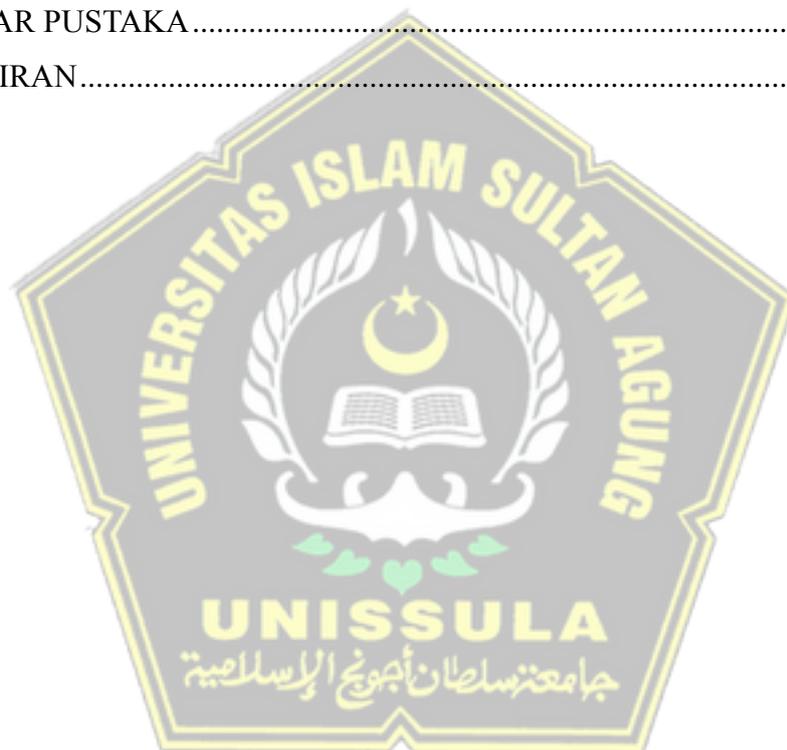
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK.....	vii
<i>ABSTRACT</i>	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Originalitas Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	8
1.5.1 Manfaat Teoritis	8
1.5.2 Manfaat Praktis	8
BAB II.....	9
TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Interlukin-1 beta (IL-1 β).....	9

2.1.1	Definisi	9
2.1.2	Aktivasi IL-1 β	10
2.1.3	Peran IL-1 β dalam Proses Penyembuhan Luka	11
2.1.4	Faktor yang Mempengaruhi Kadar IL-1 β	12
2.2	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (VEGF).....	14
2.2.1	Definisi	14
2.2.2	Aktivasi VEGF	14
2.2.3	Peran VEGF dalam Proses Penyembuhan Luka	15
2.2.4	Faktor yang Mempengaruhi VEGF	17
2.2.5	Metode Pemeriksaan Kadar VEGF pada Jaringan Kulit.....	18
2.3	Jintan Putih (<i>Cuminum cyminum</i> L.)	19
2.3.1	Definisi Tanaman Jintan Putih	20
2.3.2	Taksonomi Tanaman Jintan Putih.....	20
2.3.3	Kandungan dan Manfaat Jintan Putih	20
2.3.4	Peran Jintan Putih Dalam Proses Penyembuhan Luka.....	22
2.3.5	Gel EJP	25
2.4	Luka Eksisi	28
2.4.1	Definisi	28
2.4.2	Proses Penyembuhan Luka	29
2.4.3	Patomekanisme Penyembuhan Luka Eksisi Secara Molekuler	33
2.4.4	Faktor Yang Mempengaruhi Penyembuhan Luka	35
2.5	Tikus Wistar.....	43
2.6	Povidone Iodine	43
BAB III		45
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS		45
3.1	Kerangka Teori	45
3.2	Kerangka Konsep	51
3.3	Hipotesis.....	51
BAB IV		52
METODE PENELITIAN		52
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	52

4.2	Populasi dan Sampel Penelitian.....	53
4.2.1	Subjek Penelitian.....	53
4.2.2	Besar Sampel.....	54
4.2.3	Teknik Pengambilan Sampel Penelitian.....	55
4.3	Variabel Penelitian.....	55
4.4	Definisi Operasional.....	56
4.4.1	Gel Ekstrak Jintan Putih (GEJP).....	56
4.4.2	Kadar Interlukin-1 Beta (IL-1 β).....	56
4.4.3	Kadar <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (VEGF).....	56
4.5	Alat dan Bahan.....	57
4.5.1	Alat.....	57
4.5.2	Bahan.....	58
4.6	Cara Penelitian.....	58
4.6.1	Perizian Ethical Clearance.....	58
4.6.2	Persiapan Ekstrak.....	58
4.6.3	Pembagian Kelompok.....	60
4.6.4	Persiapan Hewan Uji.....	61
4.7	Alur Penelitian.....	66
4.8	Analisis Data.....	67
4.9	Tempat dan Waktu Penelitian.....	67
BAB V.....		69
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		69
5.1.	Hasil Penelitian.....	69
5.1.1.	Hasil Uji Standarisasi Ekstrak Jintan Putih.....	70
5.1.2.	Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Jintan Putih.....	71
5.1.3.	Hasil Pemeriksaan Kadar IL-1 β pada Jaringan Kulit.....	73
5.1.4.	Hasil Pemeriksaan Kadar VEGF Jaringan Kulit.....	77
5.1.5.	Gambaran Makroskopis pada Luka Eksisi Antar Kelompok.....	81
5.2.	Pembahasan.....	84
5.2.1.	Pembahasan Uji Standarisasi Ekstrak Jintan Putih.....	84
5.2.2.	Pembahasan Skrining Fitokimia Ekstrak Jintan Putih.....	85

5.3.3. Pengaruh Pemberian EJP terhadap Kadar IL-1 β	87
5.2.4. Pengaruh Pemberian EJP terhadap Kadar VEGF	94
5.2.5. Pengaruh Pemberian EJP terhadap Makroskopis Luka	97
5.2.6. Keterbatasan Penelitian	100
BAB VI	103
KESIMPULAN DAN SARAN.....	103
6.1 Kesimpulan.....	103
6.2 Saran	104
DAFTAR PUSTAKA	105
LAMPIRAN.....	113



DAFTAR SINGKATAN

ABTS	:	<i>2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)</i>
Akt	:	<i>Protein Kinase B</i>
AMPK α 1	:	<i>AMP-Activated Protein Kinase alpha 1</i>
AP-	:	<i>Activator Protein 1</i>
ARE	:	<i>Antioxidant Response Element</i>
COX-2	:	<i>Cyclooxygenase-2</i>
DAMPs	:	<i>Damage-Associated Molecular Patterns</i>
DDA	:	<i>Data Dependent Acquisition</i>
DIA	:	<i>Data Independent Acquisition</i>
DPPH	:	<i>2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
DNMT	:	<i>DNA methyltransferase</i>
ECL	:	<i>Electrochemiluminescence Immunoassay</i>
ECM	:	<i>Extracellular Matrix</i>
EJP	:	<i>Ekstrak Jintan Putih</i>
ELISA	:	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
ERK	:	<i>Extracellular Signal-Regulated Kinase</i>
EV	:	<i>Extracellular Vesicles</i>
FGF	:	<i>Fibroblast Growth Factor</i>
HDAC3	:	<i>Histone Deacetylase 3</i>
HIF-1 α	:	<i>Hypoxia-Inducible Factor-1 alpha</i>
HIF-1 β	:	<i>Hypoxia-Inducible Factor-1 beta</i>
HO-1:	:	<i>Heme Oxygenase-1</i>
HPA	:	<i>Hypothalamic–Pituitary–Adrenal axis</i>
HRE	:	<i>Hypoxia Response Element</i>
ICAM-1	:	<i>Intercellular Adhesion Molecule-1</i>
IFN- γ	:	<i>Interferon Gamma</i>
IKK	:	<i>Inhibitor of κB Kinase</i>
IL	:	<i>Interleukin</i>
iNOS	:	<i>inducible Nitric Oxide Synthase</i>
I κ B α	:	<i>Nuclear Factor Kappa-B Inhibitor</i>

JNK	:	<i>c-Jun N-terminal Kinase</i>
JMJD3	:	<i>Jumonji Domain-containing Protein 3</i>
kDa	:	<i>Kilodalton</i>
KDR	:	<i>Kinase Insert Domain Receptor</i>
MAPK	:	<i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MMPs	:	<i>Matrix Metalloproteinases</i>
MS	:	<i>Mass Spectrometry</i>
ncRNA	:	<i>RNA non coding</i>
NETs	:	<i>Neutrophil Extracellular Traps</i>
NF- κ B	:	<i>Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer Of Activated B Cells</i>
NLRP3	:	<i>NOD-Like Receptor Family Pyrin Domain-Containing 3</i>
NO	:	<i>Nitric Oxide</i>
NP-1	:	<i>Neuropilin-1</i>
NP-2	:	<i>Neuropilin-2</i>
NRF2	:	<i>Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2</i>
PAMPs	:	<i>Pathogen-Associated Molecular Patterns</i>
PDGF	:	<i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
PI3K	:	<i>Phosphoinositide 3-Kinase</i>
PIGF	:	<i>Placental Growth Factor</i>
PKC δ	:	<i>Protein Kinase C-Delta</i>
PPAR- γ	:	<i>Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Γ</i>
PRRs	:	<i>Pathogen Recognition Receptor</i>
ROS	:	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SIRT1	:	<i>Sirtuin 1</i>
TGF- β 1	:	<i>Transforming Growth Factor Beta 1</i>
TLRs	:	<i>Toll-Like Receptors</i>
TNF- α	:	<i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
UAE	:	<i>Ultrasonic-Assisted Extraction</i>
VEGF	:	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VHL	:	<i>von Hippel-Lindau</i>

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Representasi struktur IL-1 β	10
Gambar 2.2	Regulasi Inflammasome NLRP3	13
Gambar 2.3	Jalur Pensinyalan VEGF	16
Gambar 2.4	Angiogenesis dipicu oleh kondisi hipoksia	18
Gambar 2.5	<i>Cuminum cyminum L.</i>	19
Gambar 2.6	Jalur sinyal antiinflamasi dari quercetin	24
Gambar 2.7	Fase Penyembuhan Luka	33
Gambar 3.1	Kerangka Teori	50
Gambar 3.2	Kerangka Konsep	51
Gambar 4.1	Skema Rancangan Penelitian	52
Gambar 4.2	Alur Penelitian	66
Gambar 5.1	Perbandingan Kadar IL-1 β antar Kelompok Perlakuan	76
Gambar 5.2	Perbandingan Kadar VEGF antar Kelompok Perlakuan	79
Gambar 5.3	Gambaran Makroskopis Hari ke-0 dan Gambaran Makroskopis Luka Eksisi pada Hari ke-6 Antar Kelompok Perlakuan (K1: Tikus sehat, K2: Kontrol negatif, K3: Kontrol positif, K4: Gel EJP 10%, K5: Gel EJP 20%)	82

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1	Originalitas Penelitian	5
Tabel 5.1	Uji Standarisasi Ekstrak Jintan Putih	71
Tabel 5.2	Uji Deskriptif Rata-rata Kadar IL-1 β dan <i>One Way</i> ANOVA.....	73
Tabel 5.3	Hasil Uji Post Hoc Tukey setelah Perlakuan Hari ke-6 terhadap Rata-rata Kadar IL-1 β	75
Tabel 5.4	Uji Deskriptif Rata-rata Kadar VEGF dan Uji One-Way ANOVA....	77
Tabel 5.5	Hasil Uji Post Hoc Tukey HSD setelah Perlakuan terhadap Rata-rata Kadar VEGF.....	79



DAFTAR LAMPIRAN

1.	Dokumentasi Ekstraksi	113
2.	Dokumentasi Uji Kadar Air dan Kadar Abu EJP	115
3.	Dokumentasi Uji Fitokimia EJP	116
4.	Surat Uji Kadar Air dan Kadar Abu EJP	118
5.	Surat Uji Fitokimia EJP	119
6.	Surat Uji Kuantitatif Bahan Aktif EJP	120
7.	Sediaan Gel Ekstraksi Jintan Putih	121
8.	Ethical Clearance	122
9.	Surat Keterangan Hewan	123
10.	Alat dan Bahan yang Digunakan untuk Perlakuan Tikus	125
11.	Dokumentasi Pemberian Perlakuan dan Pengukuran Luka	126
12.	Dokumentasi Pengambilan Jaringan Kulit Tikus Untuk ELISA	128
13.	Dokumentasi Tabung-Tabung Reagen Berisi Jaringan Kulit Tikus	129
14.	Dokumentasi Pemeriksaan ELISA jaringan IL-1 β dan VEGF	130
15.	Surat Keterangan Hasil ELISA	121
16.	Hasil SPSS	136

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Proses penyembuhan luka merupakan mekanisme biologis kompleks yang melibatkan berbagai jenis sel, matriks ekstraseluler, serta sitokin.¹⁻³ Biomarker seperti Interleukin-1 beta (IL-1 β) dan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) memainkan peran penting dalam proses penyembuhan luka. IL-1 β mengaktifkan sel imun pada fase inflamasi, sedangkan VEGF mendukung angiogenesis.² Disregulasi respons imun memicu luka kronis yang menghambat penyembuhan. Pengembangan bahan alami dalam terapi luka semakin berkembang, termasuk di industri kosmesetikal yang berfungsi sebagai kosmetik sekaligus terapeutik.⁴ Jintan putih mendukung penyembuhan luka melalui sifat antiinflamasi, antioksidan, dan antimikroba.^{5,6} Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak biji jintan putih (*Cuminum cyminum* L.) dengan dosis 250 mg/kg dan 500 mg/kg meningkatkan ekspresi TGF- β 1 dan aktivitas SOD secara signifikan, yang keduanya berperan penting dalam regenerasi jaringan dan respon inflamasi.⁷ Namun, studi terkait efek ekstrak ini terhadap IL-1 β dan VEGF sebagai mediator inflamasi dan angiogenesis dalam konteks penyembuhan luka masih sangat terbatas.⁸

Prevalensi cedera yang mengganggu aktivitas sehari-hari di Indonesia mencapai 9,2%. Sebagian besar kasus meliputi memar atau luka lebam

(64,1%), luka tusuk atau iris (20,4%), serta bekas luka permanen yang mengganggu kenyamanan (9,2%).⁹ Cedera pada kulit memicu respons imun kompleks untuk mengeliminasi patogen dan memulai pemulihan jaringan. Sel imun berperan utama dalam penyembuhan luka akut.³ Namun, ketika penyembuhan tidak berlangsung tepat waktu, luka dapat berkembang menjadi kronis akibat terganggunya fase inflamasi atau proliferasi. Transisi makrofag dari fenotipe M1 ke M2 menjadi krusial dalam penyembuhan luka yang efektif. Ketidakseimbangan proses ini berisiko menyebabkan luka sulit sembuh dan meningkatkan fibrosis.^{2,3} Senyawa bioaktif dalam jintan putih, seperti cuminaldehyde, flavonoid, dan mineral, berpotensi mengatur respons imun, stres oksidatif, dan polaritas makrofag untuk mendukung penyembuhan luka yang optimal.^{5,10,11}

Luka eksisi melibatkan pembuatan luka yang menembus seluruh lapisan kulit (epidermis dan dermis), memicu respons inflamasi yang didominasi oleh neutrofil dan makrofag proinflamasi untuk membersihkan infeksi serta debris seluler. *Damage-Associated Molecular Patterns* (DAMPs) dari sel yang rusak merangsang sekresi sitokin proinflamasi, seperti IL-1 β , yang mengaktifkan Reseptor Pengenalan Patogen (PRRs), termasuk *Toll-like receptors* (TLRs) pada makrofag, neutrofil, sel dendritik, sel T, sel mast, dan keratinosit. Aktivasi ini memulai fase inflamasi, yang kemudian berlanjut ke fase proliferasi dengan dominasi makrofag M2 dan sel T regulator (Tregs) untuk menghambat inflamasi dan mempercepat regenerasi jaringan.^{1,3}

Jintan putih menekan ekspresi sitokin proinflamasi TNF- α dan IL-1 β melalui kandungan cuminaldehyde, flavonoid, dan mineral.⁵ Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian Ekstrak Jintan Putih (EJP) secara peroral memiliki aktivitas antiinflamasi. EJP menekan perkembangan edema pada model *carrageenan-induced paw edema* dan menghambat pembentukan granuloma pada model *cotton-pellet granuloma*.¹² Pemberian topikal EJP menurunkan jumlah sel inflamasi dan meningkatkan ekspresi TGF- β 1, faktor utama angiogenesis dan regenerasi jaringan.⁷

Model luka eksisi digunakan untuk mengevaluasi efektivitas jintan putih karena mereplikasi luka manusia pada epidermis dan dermis, memungkinkan pengamatan inflamasi dan sel aktif selama penyembuhan. Gel topikal dipilih sebagai sistem penghantaran karena mengurangi efek samping sistemik, efektif langsung di lokasi luka, tidak lengket, dan memiliki daya serap optimal.^{1,13,14} Teknik ekstraksi berperan penting mengoptimalkan kandungan bioaktif EJP. Metode *ultrasonic-assisted extraction* (UAE) digunakan karena lebih sederhana, hemat biaya, dan efisien dibanding ekstraksi konvensional. Kondisi optimal ekstraksi adalah etanol 40%, suhu 39°C, selama 51 menit.¹⁵ Etanol:air dipilih sebagai pelarut karena memiliki selektivitas tinggi, bersifat non-toksik, netral, dan mampu melarutkan berbagai senyawa bioaktif.¹⁶ Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam pengembangan formulasi kosmeseutikal berbahan aktif jintan putih untuk mendukung pemulihan kulit.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian gel ekstrak jintan putih terhadap kadar IL-1 β dan kadar VEGF jaringan kulit tikus Wistar jantan model luka eksisi?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian gel ekstrak jintan putih (*Cuminum cyminum* L.) terhadap kadar IL-1 β dan kadar VEGF jaringan kulit tikus Wistar jantan model luka eksisi.

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1) Menganalisis perbedaan kadar IL-1 β dan kadar VEGF pada jaringan kulit tikus Wistar jantan antara kelompok tikus sehat dengan kelompok tikus kontrol negatif model luka eksisi.
- 2) Menganalisis perbedaan kadar IL-1 β dan kadar VEGF pada jaringan kulit tikus Wistar jantan model eksisi antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan.
- 3) Menganalisis perbedaan kadar IL-1 β dan kadar VEGF pada jaringan kulit tikus Wistar jantan model eksisi antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan.

- 4) Menganalisis perbedaan kadar IL-1 β dan kadar VEGF pada jaringan kulit tikus Wistar jantan model eksisi antar kelompok perlakuan.

1.4 Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

Peneliti	Judul Penelitian	Metode	Hasil
Ahmed et al. (2024)	<i>Cumin (Cuminum cyminum L.) seeds accelerates wound healing in rats: Possible molecular mechanisms</i>	Menggunakan model tikus Sprague Dawley dengan luka eksisi. Aplikasi cumin ekstrak etanol:air 250-500 mg/kg EJP pada luka selama 14 hari. Pengukuran histopatologi, imunohistokimia dan biokimia. Menggunakan metode ekstraksi UAE.	<ul style="list-style-type: none"> - Penurunan ukuran luka signifikan. - Peningkatan kontraksi luka. - Up-regulasi serat kolagen dan fibroblas. - Penurunan inflamasi pada jaringan granulasi. - Peningkatan TGF-β1 (berperan dalam angiogenesis dan penyembuhan luka).
Sangeeta P. Bhat et.al (2014)	<i>Effect of Cuminum cyminum L. Seed Extracts on Pain and Inflammation</i>	Menggunakan model edema paw tikus Wistar, ekstrak air dan etanol biji jintan putih dengan dosis 200mg/kg dan 500mg/kg secara peroral, untuk menguji efek analgesik dan anti-inflamasi akut dan subakut. Metode yang digunakan adalah Soxhletasi.	Pengurangan edema (peradangan) dalam uji paw edema.
Mohamed Elsaed Ebada (2017).	<i>Cuminaldehyde: A Potential Drug Candidate</i>	Tinjauan pustaka yang menyoroti efek farmakologis utama	Cuminaldehyde memiliki potensi sebagai kandidat obat karena aktivitas

		cuminaldehyde, komponen utama minyak atsiri cumin.	antidiabetes, antikanker, neuroprotektif, antiinflamasi, antimikroba, dan antijamur, serta peran non-medis sebagai bio-fumigan alami dalam pengendalian hama.
Krishnapura Srinivasan (2018)	<i>Cumin (Cuminum cyminum) and black cumin (Nigella sativa) seeds: Traditional uses, chemical constituents, and nutraceutical effects</i>	Review literatur dari penelitian terkait jintan putih (<i>Cuminum cyminum</i>) dan jintan hitam (<i>Nigella sativa</i>), dengan fokus pada penggunaan tradisional, senyawa kimiawi, dan efek nutrasetikal.	Cumin memiliki efek protektif terhadap inflamasi kronis dan modulasi enzim COX-2 serta NF-κB.
Neetu Singh et al. (2021)	<i>A review on traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and clinical research of dietary spice Cuminum cyminum L.</i>	Studi literatur sistematis terhadap 67 artikel terkait jintan putih (<i>Cuminum cyminum</i>) dari tahun 2016–2020, mencakup aspek farmakologi, kimia, dan penelitian klinis.	Jintan mengandung bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, dan cuminaldehyde yang berfungsi sebagai antioksidan, antidiabetik, antikanker, dan lainnya.

Penelitian ini menggunakan model luka eksisi pada tikus Wistar untuk mengevaluasi efek gel ekstrak jintan putih terhadap IL-1 β dan VEGF, dua biomarker utama dalam inflamasi dan angiogenesis. Sebagian besar penelitian sebelumnya hanya meneliti efek jintan putih pada model inflamasi akut, seperti *carrageenan-induced paw edema* atau *granuloma cotton pellet*, tanpa mengeksplorasi dampaknya secara spesifik pada luka eksisi dan mekanisme penyembuhannya melalui parameter inflamasi serta angiogenesis.¹²

Selain itu, penelitian terdahulu menggunakan ekstrak jintan putih dalam bentuk peroral, sementara penelitian ini mengembangkan formulasi gel topikal, yang lebih tepat sebagai terapi luka karena bekerja langsung di lokasi cedera, mengurangi efek samping sistemik, tidak lengket, dan memiliki daya serap yang baik.¹²⁻¹⁴ Untuk meningkatkan efektivitas sediaan, penelitian ini menerapkan *ultrasonic-assisted extraction* (UAE) dengan pelarut etanol 40%, metode yang lebih efisien dalam mengekstraksi senyawa bioaktif dibandingkan teknik konvensional seperti soxhletasi yang digunakan dalam studi sebelumnya.^{7,12,15}

Penelitian ini mengeksplorasi variasi konsentrasi gel ekstrak jintan putih (10% dan 20%) menggunakan pelarut etanol dimana pada penelitian sebelumnya menunjukkan adanya efektivitas antiinflamasi pada konsentrasi 5% dan 10% dengan menggunakan pelarut etanol:air. (7:3).⁷ Selain itu, penelitian ini secara khusus menilai pengaruh jintan putih terhadap IL-1 β dan VEGF, biomarker kunci yang berperan dalam regulasi inflamasi dan angiogenesis, sedangkan pada penelitian lebih banyak berfokus pada parameter inflamasi umum, seperti pengurangan edema dan penghambatan pembentukan granuloma pada jaringan, tetapi belum mengevaluasi IL-1 β dan VEGF dalam penyembuhan luka secara spesifik.¹² Dengan pendekatan ini, penelitian ini memberikan kontribusi baru dalam pengembangan kosmeseutikal berbasis jintan putih sebagai terapi topikal yang potensial untuk mendukung pemulihan luka kulit.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat Teoritis

Memberikan informasi pengaruh pemberian gel ekstrak jintan putih terhadap kadar IL-1 β dan kadar VEGF pada tikus Wistar jantan model luka eksisi.

1.5.2 Manfaat Praktis

Memberikan informasi tentang potensi gel ekstrak jintan putih (*Cuminum cyminum L.*) sebagai bahan alam yang bermanfaat sebagai terapi penyembuhan luka serta dapat dijadikan alternatif terapi berbasis bahan alami untuk mempercepat proses penyembuhan luka, mengurangi inflamasi, dan meningkatkan angiogenesis. Penelitian ini menyediakan bukti ilmiah yang mendukung penggunaan gel ekstrak jintan putih dalam terapi klinis dan dapat menjadi dasar pengembangan produk terapi yang lebih aman dan efektif, terutama untuk pasien yang membutuhkan solusi non-sintetis.

BAB II

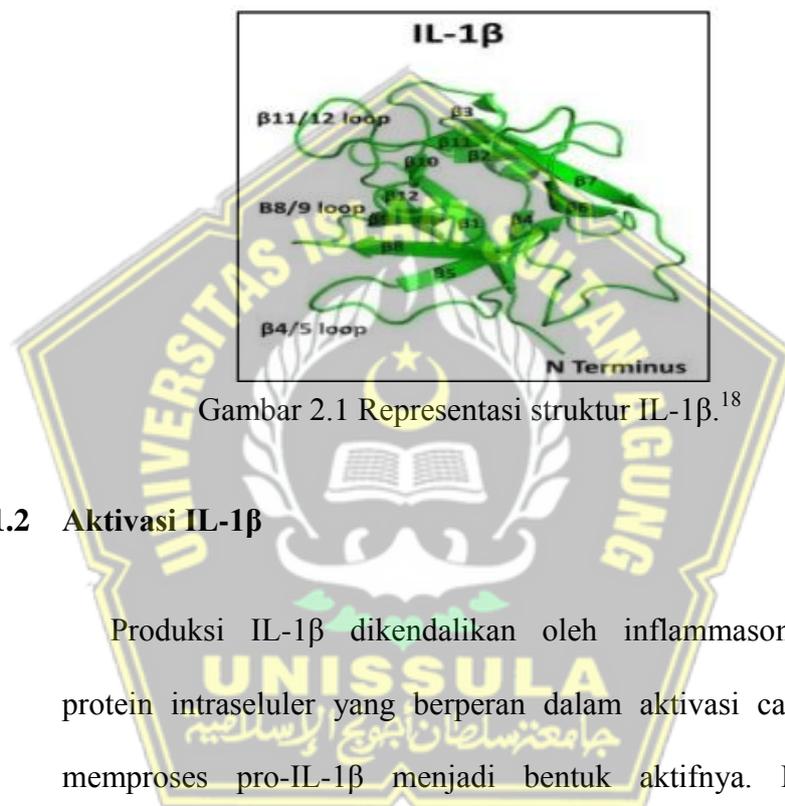
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Interleukin-1 beta (IL-1 β)

2.1.1 Definisi

Interleukin-1 beta (IL-1 β) adalah sitokin inflamasi yang memiliki berbagai fungsi fisiologis dan patologis, berperan penting dalam kesehatan dan penyakit. IL-1 β terlibat dalam respons imun tubuh, baik pada imunitas bawaan maupun adaptif. Ini berfungsi sebagai mediator utama dalam peradangan, mempengaruhi vasodilatasi (pelebaran pembuluh darah), serta meningkatkan daya tarik granulosit ke jaringan yang meradang. Selain itu, IL-1 β juga berperan dalam penginduksian demam dan sintesis prostaglandin yang terlibat dalam proses inflamasi akut. IL-1 β diproduksi oleh berbagai sel, terutama monosit, makrofag, dan sel dendritik.¹⁷ Secara struktural, IL-1 β memiliki lipatan β -trefoil, yang merupakan ciri khas keluarga IL-1. Struktur IL-1 β terdiri dari 12 lembar β yang membentuk β -barrel antiparalel, menciptakan inti hidrofobik yang memberikan stabilitas struktural. loop β 4/5 dan β 11/12 memiliki peran penting dalam fungsi biologis IL-1 β , karena struktur ini menentukan apakah IL-1 β bertindak sebagai agonis atau antagonis terhadap reseptornya. Gen IL-1 β terletak pada kromosom 2, berdekatan dengan IL-1 α dan IL-1Ra. Dalam tubuh, IL-1 β pertama

kali disintesis dalam bentuk prekursor tidak aktif (pro-IL-1 β) dengan berat molekul sekitar 31 kDa, yang kemudian diproses oleh caspase-1 dalam inflammasome untuk menghasilkan bentuk matang dengan berat molekul 17 kDa. Representasi tiga dimensi dari IL-1 β ditunjukkan pada Gambar 2.1.^{17,18}



Gambar 2.1 Representasi struktur IL-1 β .¹⁸

2.1.2 Aktivasi IL-1 β

Produksi IL-1 β dikendalikan oleh inflammasome, kompleks protein intraseluler yang berperan dalam aktivasi caspase-1 untuk memproses pro-IL-1 β menjadi bentuk aktifnya. Inflammasome mengandung protein NLRP3, yang bertindak sebagai sensor terhadap cedera sel dan infeksi mikroba. Ketika inflammasome teraktivasi, IL-1 β dilepaskan ke lingkungan ekstraseluler, memicu respons inflamasi lanjut, termasuk peningkatan permeabilitas vaskular, rekrutmen leukosit, dan produksi sitokin proinflamasi lainnya, seperti IL-6 dan TNF- α , yang memperkuat proses inflamasi.¹⁹

2.1.3 Peran IL-1 β dalam Proses Penyembuhan Luka

Pensinyalan IL-1 β dimulai dengan produksi pro-IL-1 β , prekursor 31 kDa yang disintesis oleh monosit, makrofag, dan sel dendritik setelah aktivasi reseptor pengenalan patogen (PRRs) seperti *Toll-like receptor* (TLR). Aktivasi ini dipicu oleh keberadaan *Pathogen-Associated Molecular Patterns* (PAMPs) atau *Damage-Associated Molecular Patterns* (DAMPs). Setelah diproduksi, pro-IL-1 β harus mengalami pemrosesan oleh caspase-1, yang diaktifkan melalui inflammasome, untuk menghasilkan bentuk aktif IL-1 β 17 kDa. IL-1 β matang kemudian dilepaskan ke lingkungan ekstraseluler dan berikatan dengan reseptor IL-1 tipe 1 (IL-1R1) pada sel target, membentuk kompleks dengan IL-1 *Receptor Accessory Protein* (IL-1RAcP).^{17,20}

Interaksi ini memicu aktivasi jalur sinyal intraseluler melalui MyD88, IRAK4, dan TRAF6, yang mengarah pada aktivasi NF- κ B serta jalur MAPK (p38, JNK, dan ERK). Aktivasi NF- κ B meningkatkan produksi IL-6, TNF- α , dan COX-2, sedangkan jalur MAPK berperan dalam respon inflamasi dan proliferasi sel. Efek utama dari mekanisme ini mencakup peningkatan permeabilitas vaskular, yang menyebabkan edema dan migrasi leukosit ke lokasi inflamasi, serta induksi demam melalui produksi prostaglandin E2 (PGE2) di hipotalamus. Selain itu, IL-1 β mengaktifasi neutrofil dan monosit, yang meningkatkan produksi enzim proteolitik dan sitokin

inflamasi lainnya, serta merangsang diferensiasi sel T helper 17 (Th17), yang berperan dalam inflamasi penyakit autoimun dan kronis.^{17,20}

2.1.4 Faktor yang Mempengaruhi Kadar IL-1 β

1) Sinyal Imunologis (PAMPs dan DAMPs)

PAMPs (Molekul patogen) dapat mengaktifkan Toll-like receptor (TLR), yang kemudian memicu aktivasi NF- κ B dan meningkatkan ekspresi pro-IL-1 β . Sementara itu, DAMPs (Molekul yang dilepaskan dari sel yang rusak) dapat mengaktifkan inflammasome NLRP3, yang berperan dalam pemrosesan pro-IL-1 β menjadi bentuk aktifnya, sehingga memungkinkan pelepasan IL-1 β yang berkontribusi terhadap respon inflamasi.^{17,19}

2) Aktivasi inflammasome

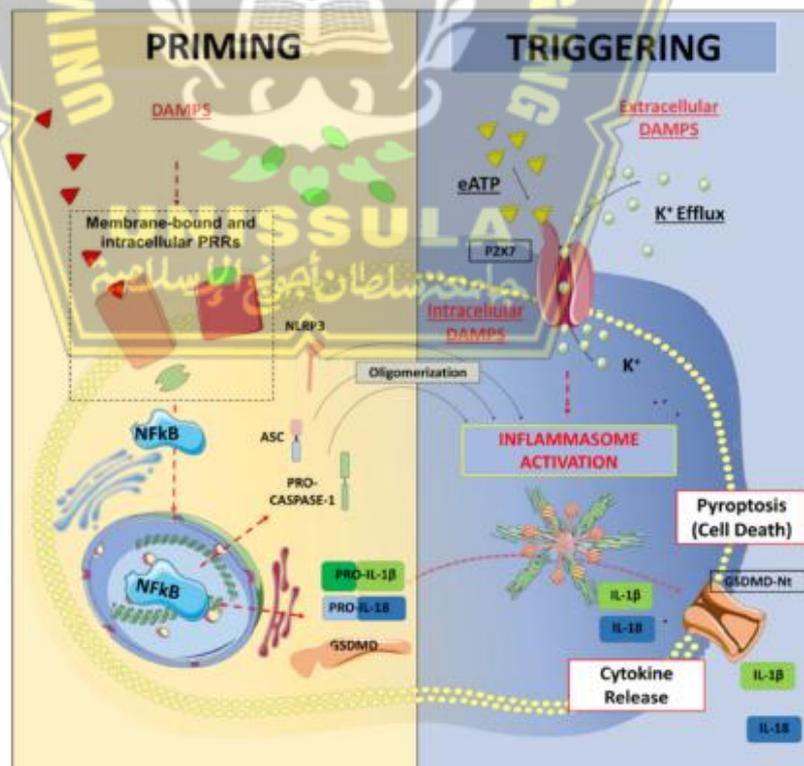
Inflammasome NLRP3 adalah kompleks protein yang diperlukan untuk pemrosesan pro-IL-1 β menjadi IL-1 β aktif.²⁰

3) Inflamasi kronis

Produksi IL-1 β yang berlebihan berperan dalam perkembangan berbagai kondisi patologis, termasuk rheumatoid

arthritis, nyeri neuropatik, penyakit inflamasi usus, osteoarthritis, gangguan vaskular, multiple sclerosis, serta penyakit Alzheimer.¹⁹

Aktivasi inflammasome NLRP3 bergantung pada dua langkah independen. Langkah pertama adalah tahap pemanasan (priming) yang dipicu oleh DAMPs (damage-associated molecular patterns) dan mengarah pada transkripsi dan translasi gen pro-inflamasi, termasuk gen untuk pro-IL-1 β dan IL-18 serta komponen-komponen inflammasome NLRP3. Langkah kedua memicu aktivasi inflammasome, yang bergantung pada oligomerisasi tiga komponen inflammasome. Setelah pemotongan autotatalitik dari pro-caspase-1 menjadi caspase-1 aktif, enzim ini memotong pro-IL-1 β menjadi bentuk aktifnya dan membentuk saluran gasdermin untuk pelepasan IL-1 β dan IL-18 dari sel. Proses molekuler yang mengatur inflammasome NLRP3 dapat diamati pada Gambar 2.2.²⁰



Gambar 2.2 Regulasi Inflammasome NLRP3

2.2 *Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)*

2.2.1 Definisi

VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) berperan krusial dalam penyembuhan luka melalui stimulasi angiogenesis atau pembentukan pembuluh darah baru. Sebagai mitogen sel endotel, VEGF mendorong proliferasi dan migrasi sel ke area cedera serta meningkatkan permeabilitas vaskular guna mendukung distribusi oksigen dan nutrisi. VEGF diproduksi oleh berbagai sel seperti endotel, fibroblas, makrofag, dan trombosit, dengan ekspresi yang diinduksi antara lain oleh hipoksia. Secara struktural, VEGF adalah glikoprotein homodimerik dengan lima isoform utama, yaitu VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF189, dan VEGF206, yang dihasilkan melalui *splicing* alternatif mRNA. Bioavailabilitas masing-masing isoform bergantung pada afinitas terhadap heparin; VEGF121 bersifat bebas, VEGF189 dan VEGF206 lebih banyak terikat di permukaan sel, sementara VEGF145 dan VEGF165 menunjukkan sifat intermediat. Variasi ini memengaruhi efek lokal maupun sistemik VEGF dalam proses regeneratif jaringan.²¹

2.2.2 Aktivasi VEGF

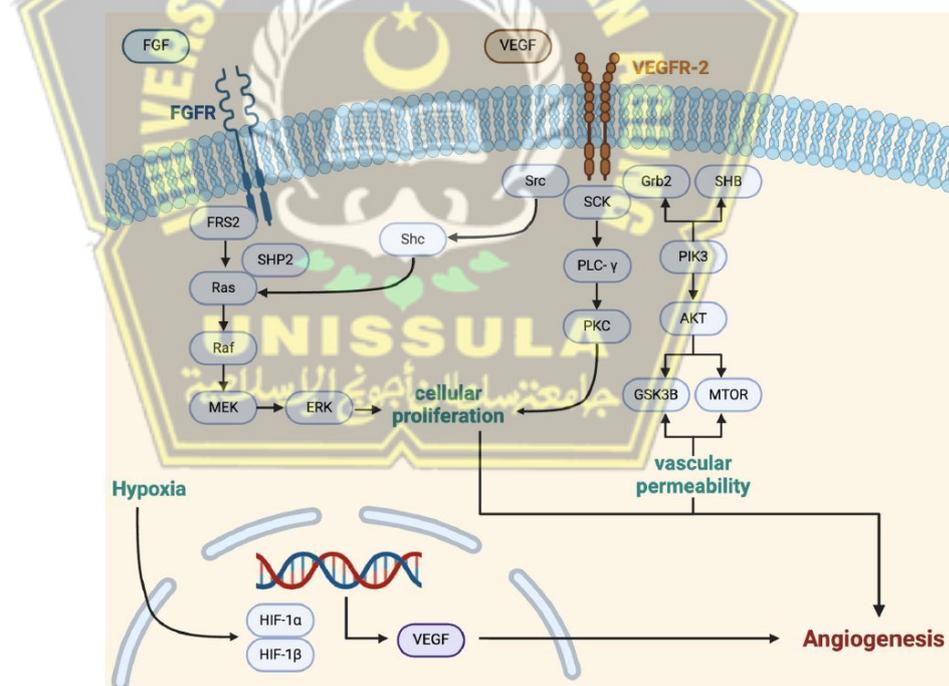
Aktivasi VEGF terjadi saat molekul ini berikatan dengan dua reseptor utama pada permukaan sel endotel, yaitu VEGFR-1 (Flt-1) dan VEGFR-2 (KDR/Flk-1), dengan VEGFR-2 sebagai reseptor

utama yang mengatur proliferasi, migrasi sel endotel, dan angiogenesis. Hipoksia dapat menginduksi ekspresi VEGF melalui aktivasi faktor transkripsi HIF-1 α , yang berperan penting dalam mendukung proses neovaskularisasi.²²

2.2.3 Peran VEGF dalam Proses Penyembuhan Luka

Jalur pensinyalan VEGF dimulai ketika VEGF berikatan dengan reseptor VEGFR-1 (Flt-1) dan VEGFR-2 (KDR/Flk-1) pada permukaan sel endotel, yang termasuk dalam keluarga tirosin kinase. VEGFR-2 merupakan reseptor utama yang memediasi proliferasi dan migrasi sel endotel, sedangkan VEGFR-1 berperan dalam regulasi organisasi pembuluh darah. Ikatan VEGF dengan VEGFR-2 memicu autofosforilasi domain tirosin kinase, yang kemudian mengaktivasi jalur MAPK/ERK untuk mendukung proliferasi dan migrasi sel, serta jalur PI3K/Akt untuk mempertahankan kelangsungan hidup sel, mencegah apoptosis, dan meningkatkan permeabilitas vaskular. Jalur p38, MAPK dan JNK turut mengatur respons inflamasi dan stres seluler. VEGF juga meningkatkan sintesis nitric oxide (NO) melalui aktivasi enzim NO synthase, yang berkontribusi terhadap vasodilatasi dan permeabilitas vaskular. Aktivasi jalur ini menyebabkan peningkatan permeabilitas endotel melalui disosiasi tight junctions, memungkinkan infiltrasi protein plasma dan sel imun ke jaringan luka, serta mendukung sprouting angiogenesis melalui stimulasi proliferasi

dan migrasi sel endotel kapiler. Proses ini difasilitasi oleh aktivasi MMPs yang mendegradasi matriks ekstraseluler. VEGF juga berinteraksi dengan faktor angiogenik lain seperti angiopoietin dan PDGF untuk stabilisasi dan maturasi kapiler, serta merangsang perlekatan pericytes untuk menjaga stabilitas vaskular. Selain itu, VEGF mempercepat re-epitelisasi dan pembentukan jaringan granulasi dengan meningkatkan migrasi dan proliferasi keratinosit, mempercepat penutupan luka dan mendukung regenerasi jaringan. Jalur pensinyalan VEGF yang berperan dalam penyembuhan luka ditampilkan dalam Gambar 2.3.²¹



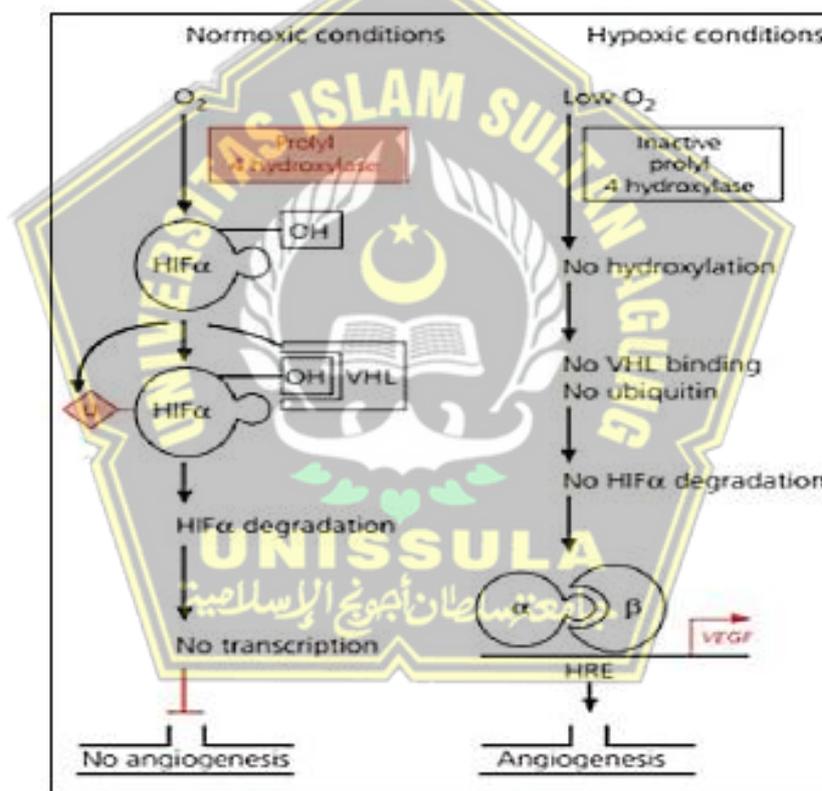
Gambar 2.3 Jalur Pensinyalan VEGF.²³

2.2.4 Faktor yang Mempengaruhi VEGF

Hipoksia akut dan Reactive Oxygen Species (ROS) berperan sebagai stimulan utama angiogenesis dengan merangsang makrofag, fibroblas, sel endotel, dan keratinosit untuk meningkatkan sintesis VEGF. Dalam kondisi hipoksia, enzim prolyl 4-hydroxylase menjadi tidak aktif, sehingga HIF-1 α (Hypoxia-Inducible Factor-1 α) tidak mengalami hidroksilasi dan gagal berikatan dengan protein von Hippel-Lindau (VHL). Akumulasi HIF-1 α di dalam sel kemudian membentuk kompleks heterodimerik bersama HIF-1 β . Kompleks ini berpindah ke inti sel dan mengaktifasi ekspresi gen VEGF melalui interaksi dengan elemen respons hipoksia (Hypoxia Response Element/HRE) di wilayah promotor gen tersebut.²²

Iskemia dan hipoksia dalam lingkungan luka memicu gangguan metabolik yang meningkatkan produksi VEGF. Penurunan tekanan oksigen jaringan luka dapat mencapai 6–7 mmHg dalam 5 hari, jauh di bawah tekanan normal jaringan sehat sebesar 45–50 mmHg. Proses angiogenesis menjadi kunci dalam memulihkan perfusi, meningkatkan mikrosirkulasi, dan menaikkan kembali tekanan oksigen hingga 30–40 mmHg. Penjelasan lebih lanjut mengenai mekanisme ini dapat dilihat pada Gambar 2.4. Hipoksia juga menginduksi ekspresi VEGF pada berbagai sel, termasuk monosit, fibroblas, keratinosit, miosit, dan sel endotel. Adenosin turut berperan dalam mengaktifasi jalur transduksi yang mempercepat transkripsi mRNA VEGF serta memperpanjang waktu paruhnya. Selain itu, hipoksia meningkatkan ekspresi reseptor VEGF seperti Flt-1 pada sel endotel, meskipun ekspresi

KDR menurun dalam 24 jam pertama dan meningkat kembali setelah 72 jam. Gradien hipoksia dalam jaringan luka menciptakan pola ekspresi VEGF yang mengarahkan migrasi sel endotel menuju area dengan kadar oksigen terendah. Makrofag berperan penting dalam mempertahankan gradien ini karena kemampuannya bertahan di lingkungan dengan kadar oksigen rendah.²¹ Bila hipoksia berlangsung secara kronis, proses neovaskularisasi justru dapat terganggu, menghambat penyembuhan luka yang optimal.²⁴



Gambar 2.4 Angiogenesis dipicu oleh kondisi hipoksia²²

2.2.5 Metode Pemeriksaan Kadar VEGF pada Jaringan Kulit

VEGF dapat diidentifikasi dan diukur dengan teknik *Real-Time* PCR (qPCR) yang digunakan untuk menganalisis ekspresi mRNA dari

VEGF dan reseptornya dalam sampel jaringan. Western Blot menunjukkan ekspresi VEGF dengan VEGFR. Selain qPCR dan *Western Blot*, *Immunohistochemistry* (IHC) digunakan untuk menganalisis distribusi dan lokalisasi ekspresi VEGF serta reseptornya (VEGFR-1, VEGFR-2, NP-1, dan NP-2) dalam jaringan.²⁵ VEGF juga dapat diukur dengan teknik ELISA. ELISA adalah teknik laboratorium yang umum digunakan untuk mengukur konsentrasi suatu analit (biasanya antibodi atau antigen) dalam larutan. Metode ini dapat memberikan informasi penting tentang kemajuan proses penyembuhan luka dengan mengkuantifikasi komponen penting dalam perbaikan jaringan, seperti sitokin dan faktor pertumbuhan, yang diperoleh dari sampel jaringan (homogenat) atau supernatan kultur sel.^{25,26} Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) merupakan alat yang efektif untuk mengevaluasi kadar VEGF.²⁷

2.3 Jintan Putih (*Cuminum cyminum* L.)



Gambar 2.5 *Cuminum cyminum* L.⁶

2.3.1 Definisi Tanaman Jintan Putih

Cuminum cyminum L. yang lebih dikenal sebagai jintan atau zeera, adalah salah satu rempah biji obat yang paling populer.⁵ Biji jintan (*Cuminum cyminum* L.) mengandung senyawa bioaktif seperti terpena, fenol, dan flavonoid. Tanaman ini digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengatasi gangguan pencernaan, diare kronis, dispepsia, gastritis akut, diabetes, dan kanker.⁶

2.3.2 Taksonomi Tanaman Jintan Putih



Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Superdivision	: <i>Spermatophyta</i>
Division	: <i>Magnoliophyta</i>
Class	: <i>Magnolipsida</i>
Subclass	: <i>Rosidae</i>
Order	: <i>Apiales</i>
Family	: <i>Apiaceae</i>
Genus	: <i>Cuminum</i> L.
Species	: <i>Cuminum cyminum</i> L. ²⁸

2.3.3 Kandungan dan Manfaat Jintan Putih

- 1) Terpenoid

Cuminaldehyde bersifat antimikroba, antidiabetes, antioksidan, antiobesitas, antiinflamasi, imunomodulator, antikanker, serta mendukung kesehatan reproduksi. Cymene bermanfaat untuk peradangan usus. Limonene berperan sebagai antioksidan dan antikanker. Linalool memiliki efek antimikroba. Thymol menunjukkan aktivitas antiobesitas dan antioksidan. Sementara itu, β -pinene dan γ -terpinene bersifat antioksidan dan antimikroba.⁵

2) Flavonoid

Flavonoid memiliki aktivitas antiinflamasi, antioksidan, dan dapat membantu mengatasi gangguan gastrointestinal. Senyawa luteolin bersifat antikanker dan antioksidan, apigenin berperan sebagai antioksidan, quercetin menunjukkan efek antiinflamasi.⁵

3) Minyak esensial

Minyak esensial dalam tanaman ini mengandung carvone yang bersifat antimikroba, serta cuminaldehyde yang juga berperan sebagai senyawa bioaktif utama.⁵

4) Eugenol

Eugenol memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antikanker.⁵

5) Vitamin E

Vitamin E berperan dalam membantu mengatasi berbagai gangguan dermatologis.⁵

6) Mineral

Jintan putih mengandung mineral esensial seperti tembaga, kalium, besi, mangan, magnesium, kalsium, seng, dan selenium²⁹

7) Polisakarida

Polisakarida larut dalam air dari jintan putih dapat merangsang sel imun untuk bekerja lebih efektif dalam melawan infeksi dan peradangan.³⁰

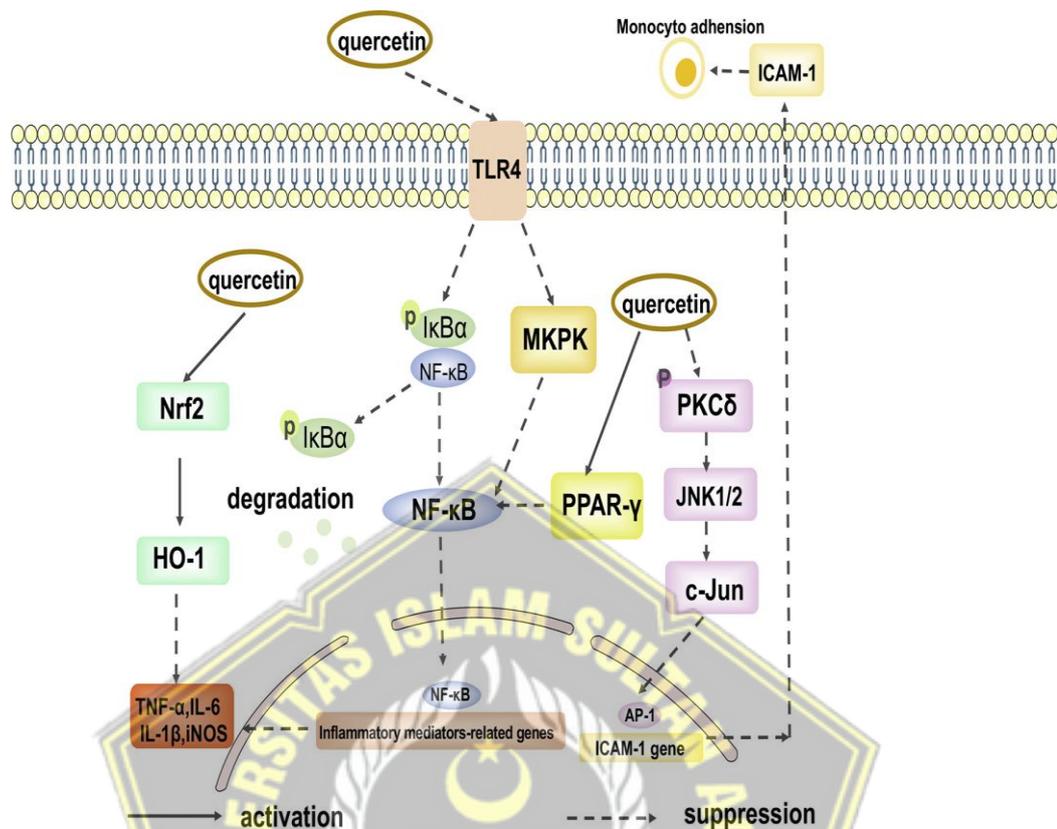
8) Senyawa lain seperti Glikosida, Protein, Resin, Saponin, Tanin, Steroid, Serat Makanan, Mineral, Lemak, Vitamin B, Vitamin A, Vitamin C, Asam Aspartat, Asam Sitrat, Asam Malat, Asam Tartarat, Asam Propionat, Asam Askorbat, Asam Oksalat, Asam Maleat, Asam Fumarat.⁵

2.3.4 Peran Jintan Putih Dalam Proses Penyembuhan Luka

Jintan putih memiliki potensi sebagai agen antiinflamasi dan antioksidan melalui berbagai mekanisme, termasuk penghambatan produksi nitric oxide (NO), regulasi jalur pensinyalan inflamasi, serta penurunan ekspresi sitokin pro-inflamasi. Salah satu senyawa aktifnya, flavonoid, memiliki efek antiinflamasi yang signifikan dengan menurunkan ekspresi iNOS dan COX-2, dua enzim utama dalam produksi NO dan prostaglandin, yang berperan dalam inflamasi kronis seperti edema, rheumatoid arthritis, dan bronkitis.⁵ Flavonoid

menghambat jalur pensinyalan NF- κ B dan MAPKs dengan menekan fosforilasi I κ B α , p65, JNK, ERK, p38, MEK.^{10,11}

Jalur sinyal antiinflamasi yang dimediasi oleh quercetin dijelaskan dalam Gambar 2.6. Senyawa Quercetin yang termasuk dalam golongan flavonoid telah terbukti menurunkan kadar NO, IL-6, dan TNF- α serta memodulasi polaritas makrofag (M1 ke M2) melalui jalur AMPK α 1 dan SIRT1, selain itu, Quercetin menghambat enzim yang menghasilkan radikal bebas sehingga menurunkan produksi ROS. Quercetin juga meningkatkan kadar enzim antioksidan seperti superoxide dismutase (SOD) dan Quercetin mengaktifkan jalur NRF2 yang mengatur ekspresi enzim antioksidan dan memperkuat pertahanan sel terhadap oksidasi.³¹ Senyawa Apigenin dari EJP mendorong polarisasi makrofag menuju tipe M2 melalui aktivasi PPAR γ .^{10,31} Selain flavonoid, kuminaldehida (cuminaldehyde) merupakan komponen utama yang berperan dalam efek antiinflamasi. Beberapa studi juga menunjukkan bahwa kuminaldehida dapat menurunkan kadar serum TNF- α dan IL-1 β , yaitu dua sitokin utama yang terlibat dalam respon inflamasi.^{5,32}



Gambar 2.6 Jalur sinyal antiinflamasi dari quercetin³³

2.3.4.1 Penghambatan Produksi Sitokin Proinflamasi

Quercetin menurunkan produksi sitokin proinflamasi seperti IL-6, TNF- α , dan IL-1 β dengan cara meningkatkan regulasi reseptor TLR4. Hal ini kemudian menghambat fosforilasi protein I κ B α dan ekspresi protein MAPK, sehingga mencegah faktor transkripsi NF- κ B masuk ke inti sel dan mengatur gen yang memicu inflamasi. Selain itu, aktivasi PPAR- γ oleh quercetin juga membantu membatasi mediator inflamasi dengan menghambat jalur NF- κ B.³³

2.3.4.2 Penghambatan Jalur PKC δ – JNK – c-Jun

Quercetin menghambat aktivasi protein kinase C delta (PKC δ), yang kemudian mengendalikan jalur sinyal PKC δ –JNK1/2–c-Jun. Penghambatan ini mengurangi akumulasi faktor transkripsi AP-1 di gen target, yang menyebabkan penurunan ekspresi molekul adhesi ICAM-1 dan mengurangi respon peradangan.³³

2.3.4.3 Aktivasi Jalur Antioksidan Nrf2

Quercetin meningkatkan ekspresi faktor transkripsi Nrf2 dan mengaktifkan gen-gen di bawah kendalinya. Aktivasi Nrf2 ini meningkatkan produksi enzim HO-1 (heme oxygenase-1), yang berperan dalam menekan ekspresi TNF- α , iNOS, dan IL-6, sehingga memberikan efek antiinflamasi dan perlindungan terhadap stres oksidatif.³³

2.3.5 Gel EJP

1) Sediaan Gel

Pemilihan sediaan topikal bergantung pada efektivitas penyerapan obat melalui barrier kulit, sistem penghantaran obat, dan dosis yang disesuaikan dengan kebutuhan individu. Sediaan ini lebih unggul dibandingkan rute oral karena menghindari efek

lintas pertama di hati, mengurangi iritasi gastrointestinal, dan bekerja langsung ke area target sehingga meminimalkan efek samping sistemik.¹³ Gel merupakan sediaan topikal semisolid dengan matriks polimer yang memungkinkan dispersi obat secara homogen. Gel memiliki keunggulan berupa tekstur ringan, cepat menyerap, mudah diaplikasikan, serta tidak meninggalkan residu berminyak jika dibandingkan dengan krim atau salep. Sediaan topikal gel dapat meningkatkan stabilitas obat, bioavailabilitas, dan kompatibilitas dengan berbagai bahan aktif. Selain itu, sediaan ini memberikan kenyamanan saat digunakan dan meningkatkan kepatuhan pasien, terutama dalam terapi penyakit kulit kronis.^{14,34,35}

2) Dosis Gel EJP

Dalam penelitian ini, dosis ekstrak etanol *Cuminum cyminum* L. yang digunakan adalah 500 mg/kg dan 1000 mg/kg, yang masing-masing setara dengan 10% dan 20% dari berat tubuh tikus dengan berat rata-rata 100 - 277 gram.³⁶ Dosis ini dipilih berdasarkan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol:air jintan putih pada dosis 250mg/kg dan 500mg/kg memiliki potensi dalam mempercepat penyembuhan luka pada tikus.⁷ Penelitian lain juga menunjukkan dosis 200mg/kg dan 500mg/kg per-oral pada ekstrak air jintan putih menunjukkan efek

antiinflamasi.¹² Oleh karena itu, perluasan range dosis tersebut akan diterapkan dalam penelitian ini untuk mengevaluasi pengaruh ekstrak etanol *Cuminum cyminum* L. terhadap proses penyembuhan luka pada tikus percobaan.

3) Pelarut dan Metode Ekstraksi

Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE) merupakan metode ekstraksi yang menggunakan gelombang ultrasonik untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi senyawa bioaktif dari tanaman. UAE dipilih karena lebih unggul dibandingkan metode konvensional seperti maserasi dan soxhletasi, yang memerlukan waktu lebih lama dan berisiko menyebabkan degradasi senyawa aktif akibat panas berlebih.¹⁵

Pemilihan etanol sebagai pelarut dalam ekstraksi UAE didasarkan pada selektivitas tinggi, keamanan, dan efisiensi dalam mengekstrak senyawa bioaktif. Etanol mampu melarutkan berbagai senyawa aktif dan bersifat non-toksik. Studi menunjukkan bahwa konsentrasi etanol 40% pada suhu 39°C selama 51 menit menghasilkan rendemen tertinggi dengan kandungan total polifenol sebesar 27,11 mg GAE/g, serta meningkatkan aktivitas antioksidan DPPH sebesar 52,47% dan ABTS sebesar 41,04%. Dengan kemampuannya dalam meningkatkan efisiensi ekstraksi serta menjaga stabilitas senyawa

bioaktif, etanol menjadi pilihan ideal sebagai pelarut dalam metode UAE.^{15,16,37}

2.4 Luka Eksisi

2.4.1 Definisi

Luka eksisi adalah salah satu model luka yang paling umum digunakan dalam penelitian penyembuhan luka. Luka eksisi dibuat dengan mengangkat seluruh lapisan kulit, termasuk epidermis, dermis, dan jaringan subkutan, tanpa dilakukan penjahitan (*healing by second intention*). Model ini digunakan untuk mengevaluasi berbagai aspek penyembuhan luka, seperti hemoragi, inflamasi, pembentukan jaringan granulasi, re-epitelisasi, angiogenesis, dan remodeling jaringan.²⁶

Model luka eksisi memiliki beberapa keunggulan dalam penelitian penyembuhan luka. Model ini menyerupai luka klinis akut pada manusia, di mana penyembuhan terjadi melalui pembentukan jaringan baru, bukan sekadar penyatuan kembali tepi luka. Selain itu, luka eksisi memiliki fleksibilitas dalam aplikasi terapi, memungkinkan pengujian topikal agen farmakologi, termasuk gel penyembuhan luka. Melalui model luka eksisi, memungkinkan analisis mendalam terhadap proses inflamasi, tipe sel yang terlibat, dan interaksi dalam penyembuhan luka.^{1,26}

2.4.2 Proses Penyembuhan Luka

1) Fase Inflamasi

a. Fase Haemostasis (*Early Inflammation*)

Fase ini dimulai segera setelah luka terjadi. Pembuluh darah yang rusak menyebabkan perdarahan, dan tubuh bereaksi dengan mengaktifkan faktor koagulasi untuk menghentikan perdarahan dan membentuk bekuan darah. Trombosit yang terlibat dalam proses ini akan mengeluarkan sitokin dan faktor pertumbuhan yang mengaktifkan respon inflamasi awal.³⁸

Trombosit berperan sebagai mediator utama dalam proses hemostasis dan koagulasi, serta memulai penyembuhan segera setelah menerima sinyal dari matriks ekstraselular (ECM) dan sel di sekitar luka. ECM mengeluarkan protein seperti fibronectin, kolagen, dan faktor von Willebrand yang berikatan dengan reseptor trombosit, seperti glikoprotein 6, lalu memicu pembentukan bekuan darah. Bekuan ini terdiri atas trombosit yang terperangkap dalam jaringan fibrin, fibronectin, vitronectin, dan thrombospondin, yang berfungsi mencegah perdarahan. Selain itu, bekuan darah melindungi area luka dari infeksi dan menjadi sumber sitokin serta faktor

pertumbuhan yang dilepaskan oleh trombosit teraktivasi untuk merekrut sel-sel imun.³

b. Fase Inflamasi Akhir (*Late Inflammation*)

Respons inflamasi akut diinisiasi oleh pelepasan *Damage-Associated Molecular Patterns* (DAMPs), gelombang Ca^{2+} intraseluler, ROS, mediator lipid, dan kemokin. Sel nekrotik dan apoptotik melepaskan DAMPs seperti HMGB1, protein S100, heat shock proteins, IL-1 β , IL-33, serta fragmen ekstraseluler seperti hialuronan dan fibronectin. Molekul-molekul ini mengaktifasi reseptor pengenalan pola seperti *Toll-like receptors* (TLRs) yang terdapat pada monosit, makrofag residen, neutrofil, sel dendritik, sel T, sel mast, dan keratinosit. Neutrofil berperan utama dalam pertahanan awal luka kulit melalui pelepasan ROS, granula sitotoksik, dan pembentukan *neutrophil extracellular traps* (NETs) yang diikuti fagositosis. Selain membersihkan patogen, neutrofil memperkuat inflamasi dengan melepaskan sitokin dan kemokin seperti TNF- α , IL-1 β , IL-6, CXCL8, CXCL2, dan MCP-1 yang merekrut neutrofil, makrofag, serta sel T ke area luka. Neutrofil juga mengekspresikan agen antimikroba dan protease, serta mensekresikan faktor pertumbuhan yang merangsang proliferasi keratinosit dan fibroblas.³

Keratinosit turut memulai fase inflamasi dengan mengekspresikan TLR-3, TLR-4, dan TLR-9, yang meningkat pada luka akut. Aktivasi TLR oleh DAMPs memicu produksi sitokin (misalnya IFN- γ , TNF- α , IL-8, IL-18, dan IL-36) dan kemokin (CCL20 dan CCL27). Secara khusus, TLR-4 mengaktifkan jalur sinyal p38 dan JNK MAPK, yang menginduksi produksi sitokin proinflamasi.³

c. Fase Proliferasi

Fase ini berlangsung dari hari ke-3 hingga hari ke-21 setelah luka, dengan tujuan utama membentuk jaringan baru yang menggantikan jaringan yang rusak. Tiga proses utama terjadi dalam fase ini, yaitu neoangiogenesis, pembentukan fibroblast, dan re-epitelisasi. Neoangiogenesis adalah pembentukan pembuluh darah baru yang berfungsi untuk mengalirkan oksigen dan nutrisi ke jaringan yang sedang berkembang. Proses ini didukung oleh faktor pertumbuhan seperti VEGF dan *Fibroblast Growth Factor* (FGF), yang berperan dalam stimulasi migrasi dan proliferasi sel endotel untuk membentuk kapiler baru. Selain itu, terjadi pembentukan fibroblas, di mana fibroblas menghasilkan matriks ekstraselular yang mengisi celah luka dan menyediakan landasan bagi migrasi sel-sel lainnya. Fibroblas juga memproduksi kolagen tipe III, yang menjadi komponen

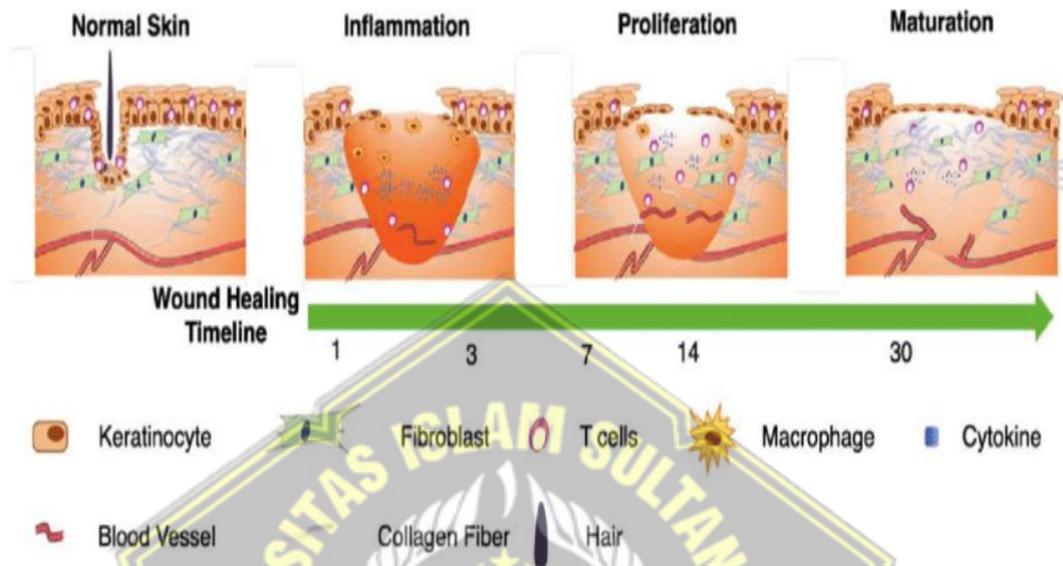
utama dalam pembentukan jaringan baru sebelum akhirnya mengalami remodeling menjadi kolagen tipe I yang lebih kuat.³⁸

Proses selanjutnya adalah re-epitelisasi, yang ditandai dengan migrasi, proliferasi, dan diferensiasi sel-sel keratinosit dari tepi luka menuju tengah luka untuk menutup permukaan luka. Proses ini memastikan bahwa permukaan luka dapat tertutup kembali dengan jaringan epitel baru, sehingga mengembalikan fungsi pelindung kulit.³⁸

d. Fase Maturasi (Remodeling)

Fase ini berlangsung dari hari ke-21 hingga satu tahun setelah luka, dengan tujuan utama untuk memperkuat dan memperbaiki integritas struktural jaringan baru. Pada fase ini, terjadi kontraksi luka, di mana fibroblas berubah menjadi myofibroblas yang membantu mengurangi ukuran luka dengan menarik tepi luka agar lebih rapat. Selain itu, terjadi remodeling kolagen, di mana kolagen tipe III yang terbentuk selama fase proliferasi digantikan oleh kolagen tipe I yang lebih kuat dan lebih tahan lama, sehingga meningkatkan kekuatan serta ketahanan jaringan baru. Selanjutnya, proses remodeling berlangsung dengan menjaga keseimbangan antara sintesis dan degradasi kolagen, yang pada akhirnya menghasilkan jaringan parut yang lebih kuat. Progresi dari

fase inflamasi, proliferasi, hingga maturasi dalam penyembuhan luka divisualisasikan pada Gambar 2.7.³⁸



Gambar 2.7 Fase Penyembuhan Luka.³⁹

2.4.3 Patomekanisme Penyembuhan Luka Eksisi Secara Molekuler

Penyembuhan luka adalah proses biologis kompleks yang melibatkan respon seluler dan molekuler, terdiri dari fase inflamasi, proliferasi, dan remodeling. Proses ini dipengaruhi oleh berbagai sitokin, kemokin, dan faktor pertumbuhan yang bekerja secara sinergis untuk memperbaiki jaringan yang rusak.^{2,3,38}

Fase inflamasi dimulai segera setelah cedera dan berlangsung hingga hari ke-5. Proses ini diawali dengan hemostasis, di mana platelet melepaskan faktor pertumbuhan seperti PDGF, VEGF, TGF- β , dan EGF untuk mengaktifkan mekanisme penyembuhan luka.³⁸

Selanjutnya, sel yang rusak melepaskan DAMPs, yang mengaktifkan PRRs seperti TLRs pada makrofag, neutrofil, dan sel dendritik, sehingga memicu produksi sitokin proinflamasi seperti IL-1 β , TNF- α , dan IL-6.³ Neutrofil mendominasi fase awal ini dengan melakukan fagositosis debris dan patogen, serta melepaskan radikal bebas (ROS) dan protease untuk mendegradasi jaringan yang rusak. Makrofag M1 menggantikan neutrofil dan mensekresikan sitokin proinflamasi, dan pada hari ke-3 luka bergeser ke makrofag M2, yang berperan dalam menghambat inflamasi dan merangsang regenerasi jaringan.³⁸

Fase proliferasi ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi, angiogenesis, dan re-epitelisasi.³⁸ Fibroblas yang direkrut oleh PDGF dan TGF- β 1 mulai mensintesis kolagen tipe III, yang berfungsi sebagai kerangka awal jaringan baru.³ VEGF berperan dalam angiogenesis, membentuk pembuluh darah baru untuk menyediakan oksigen dan nutrisi ke area luka. Sementara itu, keratinosit mulai bermigrasi ke tepi luka untuk melakukan re-epitelisasi, membentuk lapisan epidermis baru guna menutup luka.³⁸

Fase remodeling atau maturasi bertujuan untuk memperkuat jaringan yang baru terbentuk dan menyusun ulang matriks ekstraseluler. Pada tahap ini, kolagen tipe III yang awalnya terbentuk mulai digantikan oleh kolagen tipe I, yang memiliki kekuatan mekanis lebih tinggi.² Myofibroblas berperan dalam kontraksi luka, mendekatkan tepi luka untuk mempercepat penyembuhan.³ Selain itu,

pembuluh darah yang tidak lagi dibutuhkan akan mengalami regresi untuk menyesuaikan struktur jaringan baru.³⁸

2.4.4 Faktor Yang Mempengaruhi Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka adalah proses biologis yang kompleks dan dipengaruhi oleh berbagai faktor, baik lokal maupun sistemik, yang dapat mempercepat atau menghambat regenerasi jaringan.^{26,40}

2.4.4.1 Usia

Usia berpengaruh terhadap penyembuhan luka, di mana proses regenerasi sel melambat pada individu yang lebih tua, menyebabkan waktu penyembuhan yang lebih panjang dibandingkan dengan individu yang lebih muda.^{26,40} Penuaan kulit merupakan proses kompleks yang melibatkan perubahan struktural, fungsional, dan molekuler yang signifikan. Kulit tua mengalami penipisan epidermis dan dermo-epidermal junction, yang mengurangi efektivitas pertukaran nutrisi dan limbah antara lapisan kulit.

Fragmentasi kolagen tipe I dan elastin meningkat, menyebabkan hilangnya kekuatan dan elastisitas kulit. Penurunan jumlah serta fungsi fibroblast turut menghambat sintesis matriks ekstraseluler seperti kolagen dan hyaluronic acid, sehingga kulit kehilangan kemampuannya untuk

mempertahankan kelembapan dan elastisitas. Proses pengelupasan sel kulit mati juga terganggu, mengakibatkan penebalan stratum korneum dan kulit yang kaku serta kering. Secara fungsional, penuaan menyebabkan penurunan proliferasi dan regenerasi sel, gangguan fungsi penghalang kulit, serta respon imun lokal yang melemah, yang memperlambat proses penyembuhan luka dan meningkatkan risiko luka kronis serta infeksi.⁴¹

Pemendekan telomer memengaruhi penuaan sel kulit secara molekuler. Telomer adalah segmen DNA berulang di ujung kromosom yang berfungsi melindungi stabilitas genom selama pembelahan sel. Sel somatik manusia tidak memiliki aktivitas telomerase yang cukup untuk memperpanjang telomer, maka setiap pembelahan sel menyebabkan telomer memendek secara bertahap. Ketika panjang telomer mencapai batas kritis, sel memasuki fase replicative senescence, yaitu penuaan seluler di mana sel berhenti membelah dan kehilangan kemampuan regeneratifnya. Akumulasi sel senesen pada kulit yang menua menurunkan kapasitas proliferasi keratinosit dan fibroblast, sehingga memperlambat perbaikan jaringan dan memperburuk fungsi penghalang kulit. Selain itu, sel senesen menghasilkan mediator inflamasi yang memperparah inflamasi

kronis pada kulit tua dan semakin memperlambat penyembuhan luka.⁴¹

2.4.4.2 Hormon

Hormon seks steroid, yaitu estrogen dan testosteron, memengaruhi proses penyembuhan luka pada kulit. Estrogen mempercepat penyembuhan luka dengan mengurangi inflamasi dan meningkatkan produksi matriks ekstraseluler. Pada wanita pasca menopause, kadar estrogen yang menurun mengakibatkan penurunan kemampuan penyembuhan dan peningkatan risiko luka kronis. Estrogen bekerja melalui reseptor estrogen (ER α dan ER β) yang terdapat pada fibroblas dan sel inflamasi kulit. Estrogen meningkatkan sekresi TGF- β 1 oleh fibroblas, yang berperan dalam pembentukan jaringan parut. Selain itu, estrogen menurunkan faktor migrasi makrofag (MIF) sehingga mengurangi inflamasi kronis.⁴²

Hormon testosteron menghambat penyembuhan luka dengan meningkatkan inflamasi. Studi pada hewan menunjukkan bahwa penghilangan androgen mempercepat penyembuhan luka dengan mengurangi inflamasi dan meningkatkan produksi matriks. Pada luka kronis, ekspresi reseptor androgen (AR) meningkat dan mengatur gen yang berperan dalam proliferasi dan diferensiasi sel kulit.⁴²

2.4.4.3 Stress kronis

Stres kronis juga berdampak negatif karena mengganggu keseimbangan hormon, menekan sistem imun, serta memperlambat regenerasi jaringan.^{26,40} Stres psikologis menghambat penyembuhan luka dengan mempengaruhi sistem neuroendokrin dan imun. Aktivasi sumbu hipotalamus-pituitari-adrenal (HPA) dan sistem saraf simpatik akibat stres meningkatkan kadar kortisol dan katekolamin, yang menekan produksi sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6, dan TNF- α . Penurunan sitokin ini mengurangi rekrutmen dan aktivitas sel imun serta fibroblas, sehingga memperlambat proses inflamasi dan regenerasi jaringan. Selain itu, stres menurunkan aktivitas matrix metalloproteinase (MMP) yang penting untuk remodeling jaringan luka.⁴³

Stres juga memperparah hipoksia lokal pada luka melalui vasokonstriksi dan gangguan perfusi darah, yang menghambat proliferasi fibroblas, sintesis kolagen, dan angiogenesis. Kondisi hipoksia ini memperlambat fase proliferasi dan remodeling luka, sehingga memperlambat penyembuhan.⁴³

Stres mendorong pola hidup negatif seperti merokok, konsumsi alkohol, dan gangguan tidur yang juga memperburuk penyembuhan luka. Studi klinis dan eksperimen konsisten menunjukkan bahwa stres kronis dan akut berkorelasi dengan

keterlambatan penyembuhan dan risiko infeksi luka meningkat.⁴³

2.4.4.4 Diabetes

Diabetes mellitus merupakan kondisi yang menyebabkan gangguan signifikan pada proses penyembuhan luka melalui berbagai mekanisme patologis yang kompleks. Hiperglikemia kronis yang terjadi pada penderita diabetes merusak struktur pembuluh darah sehingga mengganggu perfusi darah ke area luka, yang menyebabkan suplai oksigen dan nutrisi menjadi tidak optimal. Diabetes sering disertai dengan neuropati perifer dan penyakit vaskular perifer yang memperburuk deteksi dini luka serta memperlambat respon penyembuhan.⁴⁴

Diabetes juga menimbulkan peradangan yang berlebihan dan berkepanjangan, dimana makrofag proinflamasi (M1) tetap aktif dalam waktu lama dan gagal bertransisi menjadi makrofag anti-inflamasi (M2) yang diperlukan untuk regenerasi jaringan. Neutrofil yang meningkat pada luka diabetik melepaskan enzim sitotoksik dan radikal bebas sehingga memperparah stres oksidatif dan kerusakan jaringan, yang secara keseluruhan memperlambat proses penyembuhan luka dan meningkatkan risiko luka menjadi kronis. Angiogenesis yang berperan penting dalam fase proliferasi luka juga terganggu pada diabetes karena berkurangnya faktor

proangiogenik seperti VEGF dan meningkatnya faktor anti-angiogenik, sehingga pembentukan pembuluh darah baru menjadi tidak memadai dan kurang stabil. Proliferasi dan fungsi fibroblas menurun, dengan fibroblas yang memasuki keadaan senesens dan produksi kolagen serta matriks ekstraseluler menjadi tidak optimal, sehingga luka mengalami kontraksi yang buruk dan memperlambat pemulihan. Diabetes juga memengaruhi status nutrisi pasien dengan menyebabkan malnutrisi akibat gangguan metabolisme, resistensi insulin, dan kehilangan protein, yang semakin menghambat proses penyembuhan luka yang memerlukan aktivitas anabolik tinggi. Penumpukan produk glikasi lanjut (AGEs) di kulit diabetik memperparah kondisi ini dengan meningkatkan stres oksidatif dan kekakuan jaringan, serta memperburuk integritas kulit.⁴⁴

2.4.4.5 Obesitas

Obesitas juga berkontribusi terhadap penyembuhan yang lambat dengan meningkatkan peradangan, mengurangi aliran darah, serta menurunkan kemampuan tubuh dalam melawan infeksi.^{26,40} Obesitas memengaruhi proses penyembuhan luka melalui mekanisme inflamasi kronis di jaringan adiposa. Pada kondisi obesitas, adiposit mengalami pembesaran yang meningkatkan sekresi leptin (pro-inflamasi) dan menurunkan adiponektin (anti-inflamasi). Ketidakseimbangan ini

menyebabkan dominasi makrofag M1 yang memproduksi sitokin pro-inflamasi serta enzim perombak matriks, sementara makrofag M2 yang mendukung perbaikan luka berkurang. Hal ini menghambat angiogenesis karena produksi faktor pertumbuhan seperti VEGF dan TGF- β menurun, sehingga suplai oksigen dan nutrisi ke luka terganggu. Selain itu, sintesis kolagen tipe I yang penting untuk kekuatan jaringan luka juga menurun akibat pengaruh sitokin inflamasi dan aktivitas MMP yang berlebihan. Gangguan pada diferensiasi fibroblas dan kontraksi luka memperlambat penyembuhan dan meningkatkan risiko komplikasi luka pada penderita obesitas.⁴⁵

2.4.4.6 Epigenetik

Regulasi epigenetik mencakup proses metilasi DNA, modifikasi protein histon, serta pengaturan RNA non-koding seperti miRNA, lncRNA, dan circRNA yang berlangsung luas di seluruh genom. Proses ini mengontrol ekspresi gen setelah transkripsi dan berperan sebagai mekanisme adaptif yang memengaruhi lingkungan mikro luka serta keseluruhan proses penyembuhan. Mekanisme epigenetik mengatur penyembuhan luka secara kompleks dan terintegrasi. Salah satu mekanisme utama, yaitu DNA metilasi, berlangsung melalui aktivitas enzim DNMT1, DNMT3A, dan DNMT3B yang menambahkan gugus metil pada CpG islands untuk mengaktifkan atau

menekan ekspresi gen yang berperan dalam proliferasi sel, deposisi kolagen, dan angiogenesis.⁴⁶

Gangguan metilasi, khususnya pada luka diabetik, dapat menurunkan efektivitas ekspresi gen dan memperlambat penyembuhan. Modifikasi histon, seperti metilasi, asetilasi, dan fosforilasi, turut mengubah struktur kromatin dan mengatur akses gen terhadap transkripsi. Enzim JMJD3, misalnya, menghapus tanda metilasi H3K27me3 untuk mengaktifkan gen inflamasi pada fase awal penyembuhan, sedangkan penghambatan HDAC dapat mempercepat proses regenerasi melalui modulasi aktivitas makrofag. Selain itu, RNA non-koding seperti miRNA, lncRNA, dan circRNA juga mengatur ekspresi gen. miRNA mengendalikan proliferasi dan migrasi fibroblas, aktivitas keratinosit, inflamasi, serta angiogenesis. lncRNA bertindak sebagai pengikat miRNA dan pengatur mRNA target untuk memengaruhi proliferasi dan polarisasi makrofag, seperti pada lncRNA GAS5 dan H19. circRNA berfungsi sebagai spons miRNA untuk menjaga keseimbangan ekspresi gen. *Extracellular vesicles* (EVs) yang berasal dari sel punca membawa muatan miRNA dan protein yang mendukung komunikasi antarsel di area luka. EVs ini meningkatkan proliferasi, migrasi, dan angiogenesis, sehingga mempercepat penyembuhan jaringan.⁴⁶

2.5 Tikus Wistar

Tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar merupakan tikus albino yang sering digunakan dalam penelitian. Melalui seleksi keturunan dan perkawinan silang, tikus Wistar berkembang menjadi strain yang stabil genetiknya, memberikan keandalan dalam penelitian ilmiah. *Rattus norvegicus* strain wistar memiliki karakteristik morfologi yaitu memiliki kepala yang lebar, telinga yang panjang, ekor yang panjangnya proposional dengan tubuhnya (panjangnya kurang dari panjang tubuh). Fenotip albino pada tikus Wistar termanifestasi dalam warna bulu yang pucat, dengan mata yang menonjol dalam warna merah muda atau merah. Selain itu, tikus ini memiliki ukuran tubuh yang moderat hingga besar untuk tikus laboratorium.³⁶

2.6 Povidone Iodine

Povidone-Iodine telah diperkenalkan ke pasar farmasi sebagai antiseptik. Senyawa ini telah terbukti secara klinis bermanfaat untuk berbagai penggunaan topikal dalam bidang medis. Penggunaan Povidone-Iodine (PVP-I) secara topikal efektif dalam menangani luka bakar dan ulkus kulit yang terinfeksi, karena mampu mengendalikan pertumbuhan bakteri atau mempertahankan jumlah bakteri tetap rendah, sekaligus melindungi jaringan epitel yang sedang mengalami regenerasi.⁴⁷

Selain itu, PVP-I dapat diaplikasikan pada selaput lendir tanpa menimbulkan risiko luka bakar. Tidak hanya berfungsi sebagai antiseptik, tetapi juga berperan dalam mempercepat proses penyembuhan luka. PVP-I

dikenal sebagai disinfektan yang bekerja cepat, aman, dan efektif dalam mendukung proses penyembuhan luka. Mengingat semakin meningkatnya resistensi terhadap antibiotik dan antiseptik lain serta adanya resistensi silang di antara senyawa-senyawa tersebut, Povidone-Iodine menjadi alternatif yang layak untuk digunakan.⁴⁷



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori

Proses penyembuhan luka merupakan mekanisme biologis yang kompleks dan berlangsung melalui beberapa tahapan utama, yaitu fase Haemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi. Fase inflamasi dimulai segera setelah terjadinya luka, yang dimulai dengan respons terhadap DAMPs. DAMPs, yang dilepaskan oleh sel yang rusak atau mati, mengaktifkan TLR. Pada sel imun seperti makrofag. Aktivasi TLR ini menginduksi reaksi peradangan melalui aktivasi NF- κ B dengan meningkatkan produksi sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 β dan TNF- α .^{24,38} Cedera jaringan menyebabkan penurunan kadar oksigen dalam jaringan, yang mengaktifkan HIF-1 α . HIF-1 α berperan penting dalam menginduksi ekspresi VEGF, yang memicu angiogenesis (pembentukan pembuluh darah baru) dan memperbaiki suplai oksigen ke daerah luka. Selain itu, iNOS (*inducible Nitric Oxide Synthase*) juga teraktivasi selama fase inflamasi, menghasilkan *Nitric Oxide* (NO). Pada kadar yang tepat, NO mendukung penyembuhan melalui peningkatan angiogenesis, tetapi produksi NO yang berlebihan dapat menyebabkan stres oksidatif, yang mengganggu keseimbangan redoks sel dan memperburuk peradangan. Ketika dihasilkan dalam jumlah besar selama inflamasi, mereka dapat mengaktifkan enzim-enzim yang mengarah pada aktivasi I κ B kinase

(IKK). Aktivasi IKK menyebabkan degradasi I κ B (inhibitor NF- κ B), memungkinkan NF- κ B berpindah ke inti sel dan mengaktifkan gen-gen inflamasi. ROS memicu aktivasi NF- κ B, yang selanjutnya meningkatkan produksi ROS lebih lanjut melalui ekspresi enzim seperti iNOS, yang menghasilkan NO yang dapat bereaksi dengan ROS untuk membentuk peroxynitrite, radikal nitrogen yang sangat reaktif. Hal ini menciptakan loop positif yang memperburuk peradangan dan stres oksidatif.^{3,22,24} Pada tahap inflamasi berakhir, jumlah makrofag M1 turun dan berubah menjadi makrofag M2 yang berperan dalam mendorong reparasi jaringan dengan meningkatkan produksi kolagen dan angiogenesis.³⁸

Penyembuhan luka dipengaruhi oleh berbagai faktor yang dapat mempercepat atau menghambat regenerasi jaringan. Usia lanjut memperlambat penyembuhan luka melalui perubahan struktural dan molekuler pada kulit. Penipisan epidermis dan dermo-epidermal junction, fragmentasi kolagen dan elastin, serta penurunan jumlah dan fungsi fibroblas menyebabkan kulit kehilangan elastisitas, kelembapan, dan kapasitas regeneratifnya. Secara molekuler, proses penuaan ditandai oleh pemendekan telomer, yaitu segmen pelindung di ujung kromosom yang memendek setiap kali sel membelah. Ketika telomer mencapai batas kritis, sel memasuki fase senescence dan berhenti membelah, menghambat regenerasi jaringan. Sel senesen ini juga menghasilkan mediator inflamasi (SASP) yang memperburuk inflamasi kronik pada luka. Selain itu, penuaan melemahkan respons imun lokal dan menurunkan kapasitas angiogenesis, sehingga memperlambat pembentukan

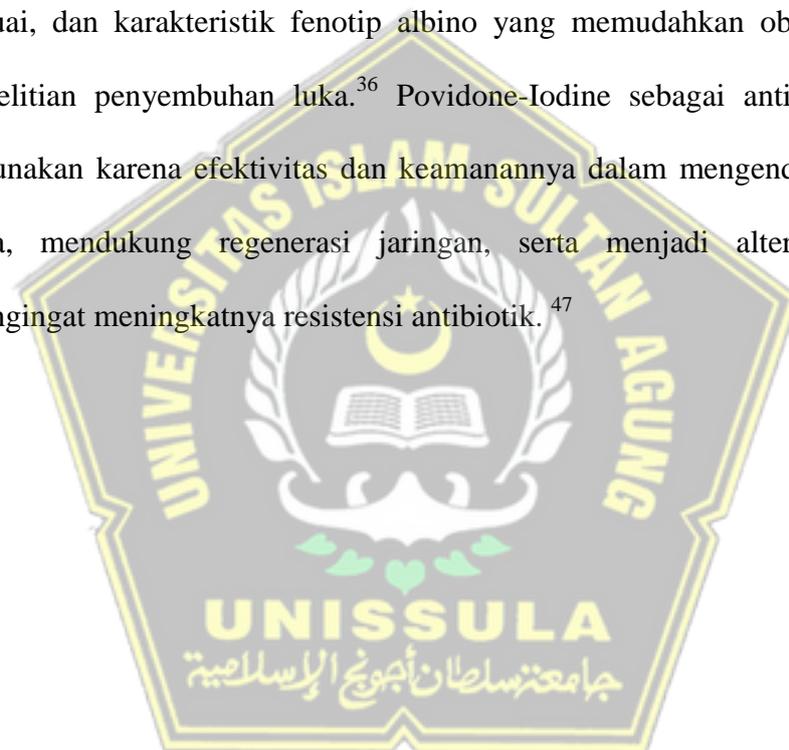
jaringan baru dan memperpanjang waktu penyembuhan.⁴¹ Ketidakseimbangan hormon seperti penurunan estrogen pascamenopause dan dominasi testosteron, turut memperlambat penyembuhan melalui efek terhadap TGF- β 1, MIF, dan ekspresi reseptor androgen.⁴² Stres kronis mengaktifkan sumbu HPA dan meningkatkan kortisol serta katekolamin, menekan sitokin proinflamasi, mengganggu perfusi luka, dan menurunkan aktivitas MMP, sehingga menghambat fase inflamasi dan remodeling.⁴³ Diabetes mellitus memperpanjang inflamasi melalui akumulasi AGEs dan aktivasi RAGE, gangguan transisi makrofag M1 ke M2, dan penurunan VEGF serta TGF- β , yang menyebabkan angiogenesis terhambat dan fibroblas memasuki fase senesens.⁴⁴ Obesitas memicu inflamasi kronis di jaringan adiposa, meningkatkan makrofag M1, menurunkan VEGF dan kolagen, serta menghambat kontraksi luka akibat aktivitas MMP yang berlebihan.⁴⁵ Regulasi epigenetik, seperti metilasi DNA, modifikasi histon, dan RNA non-koding, berperan dalam transisi fase inflamasi ke proliferasi dan remodeling melalui pengaruh terhadap polarisasi makrofag, aktivitas keratinosit, dan angiogenesis.⁴⁶

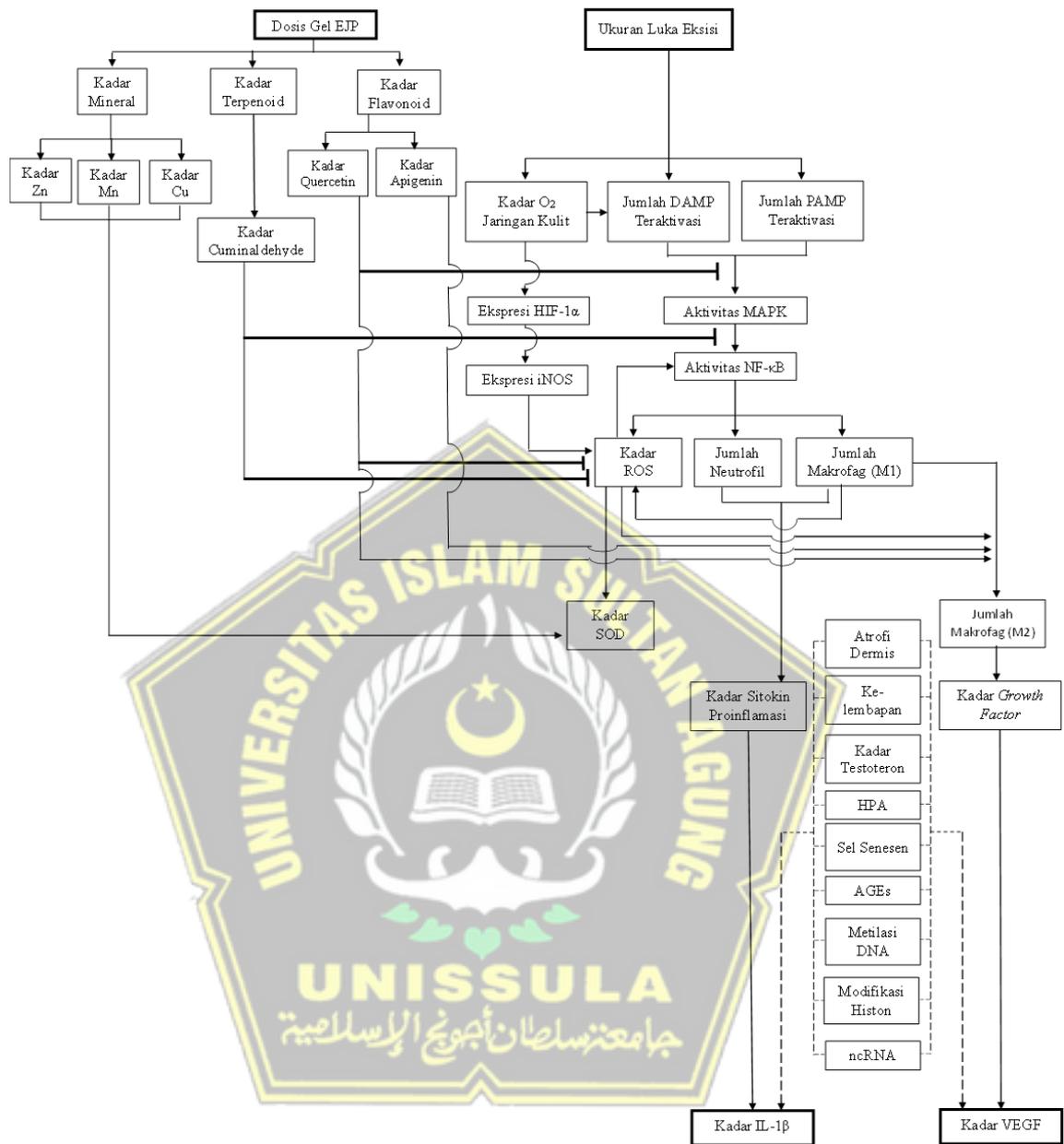
Kandungan senyawa aktif utama dalam ekstrak jintan putih, seperti cuminaldehyde dan flavonoid, berperan penting dalam menekan produksi sitokin proinflamasi dan mengurangi peradangan berlebihan. Cuminaldehyde menghambat jalur NF- κ B dan menurunkan ekspresi iNOS untuk mengendalikan produksi *nitric oxide* (NO) yang berlebih, Quercetin, salah satu flavonoid dari golongan flavonol, menunjukkan aktivitas antiinflamasi dan

antioksidan melalui berbagai jalur molekuler. Senyawa ini menghambat aktivasi jalur pensinyalan NF- κ B dan MAPK dengan menekan fosforilasi I κ B α , p65, MEK, ERK, JNK, dan p38, sehingga mencegah translokasi faktor transkripsi ke inti dan menurunkan ekspresi gen inflamasi seperti TNF- α , IL-6, dan iNOS. Quercetin juga menurunkan kadar NO dan ROS dengan cara menghambat enzim penghasil radikal bebas serta meningkatkan ekspresi enzim antioksidan seperti superoxide dismutase (SOD) dan HO-1 melalui aktivasi jalur Nrf2-ARE. Selain itu, quercetin berperan dalam modulasi polarisasi makrofag dari fenotip M1 (proinflamasi) ke M2 (antiinflamasi) melalui aktivasi AMPK α 1, SIRT1, dan PPAR γ . Jalur PKC δ -JNK-c-Jun juga dihambat oleh quercetin, yang berdampak pada penurunan ekspresi ICAM-1 dan penekanan rekrutmen leukosit ke area inflamasi. Senyawa flavonoid lain seperti apigenin turut mendukung efek ini melalui aktivasi PPAR γ .^{5,10,31}

Pemilihan sediaan topikal, khususnya gel, didasarkan pada kemampuannya menembus barrier kulit dengan efektif, mengurangi efek samping sistemik, serta memberikan aksi langsung di lokasi luka. Gel memiliki tekstur ringan, mudah menyerap, tidak lengket, dan meningkatkan bioavailabilitas serta stabilitas senyawa aktif, sehingga meningkatkan kenyamanan dan kepatuhan pasien^{14,34,35} Metode ekstraksi *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE) dipilih karena efisiensinya dalam mengisolasi senyawa bioaktif dengan waktu lebih singkat dan risiko degradasi senyawa yang rendah dibandingkan metode konvensional. Etanol 40% digunakan sebagai pelarut optimal karena selektivitas dan kemampuannya mengekstrak polifenol serta meningkatkan

aktivitas antioksidan ekstrak.^{15,16,37} Model luka eksisi digunakan untuk meniru luka klinis manusia secara akurat, mencakup epidermis dan dermis, sehingga memungkinkan pengamatan rinci terhadap dinamika inflamasi, tipe sel yang terlibat, dan efek terapi topikal. Model ini juga fleksibel untuk menguji efektivitas agen farmakologi seperti gel jintan putih.^{1,26} Tikus strain Wistar dipilih sebagai hewan percobaan karena stabilitas genetik, ukuran tubuh yang sesuai, dan karakteristik fenotip albino yang memudahkan observasi dalam penelitian penyembuhan luka.³⁶ Povidone-Iodine sebagai antiseptik topikal digunakan karena efektivitas dan keamanannya dalam mengendalikan infeksi luka, mendukung regenerasi jaringan, serta menjadi alternatif penting mengingat meningkatnya resistensi antibiotik.⁴⁷



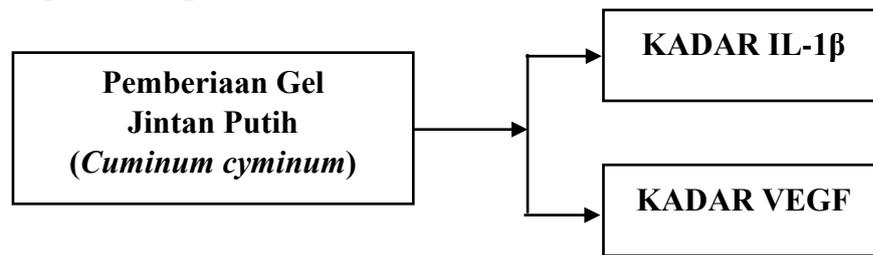


Gambar 3.1 Kerangka Teori

Keterangan:

- : Menghambat
- : Mempengaruhi
- : Variabel Perancu
- : Variabel yang diteliti
- : Variabel yang tidak diteliti

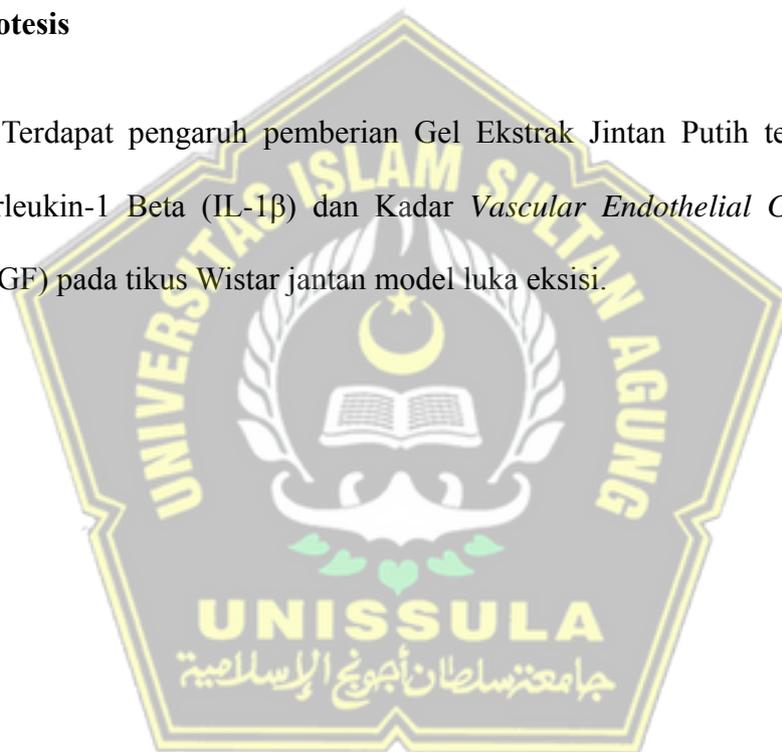
3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep

3.3 Hipotesis

Terdapat pengaruh pemberian Gel Ekstrak Jintan Putih terhadap Kadar Interleukin-1 Beta (IL-1 β) dan Kadar *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) pada tikus Wistar jantan model luka eksisi.

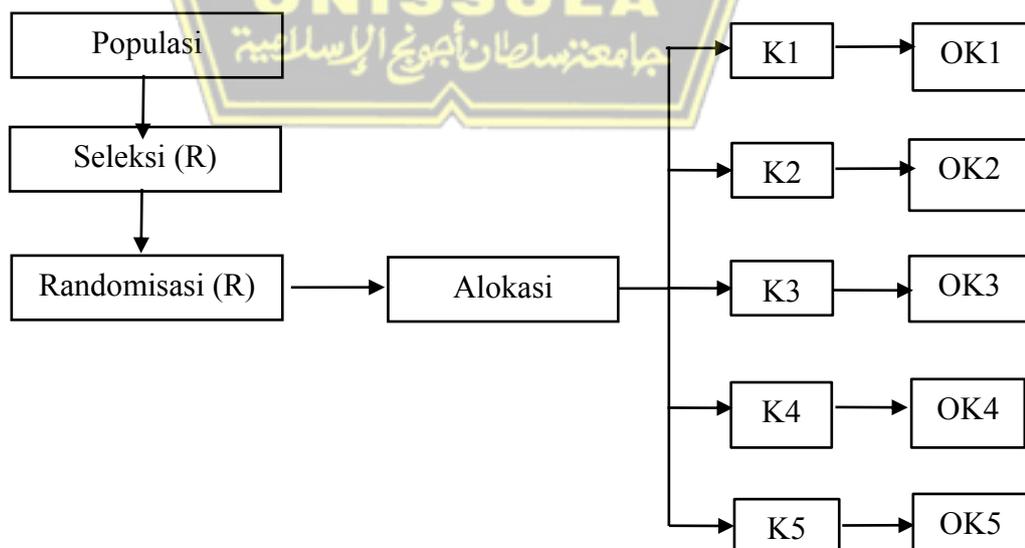


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design* untuk menilai efek pemberian gel ekstrak jintan putih (*Cuminum cyminum L.*) terhadap penyembuhan luka pada tikus jantan Wistar dengan mengukur kadar Interleukin-1-Beta (IL-1 β) dan kadar VEGF. Pengukuran parameter-parameter tersebut hanya dilakukan setelah perlakuan (*post-test*), penelitian ini memberikan gambaran mengenai dampak ekstrak jintan putih terhadap proses penyembuhan luka, serta membandingkan efek perlakuan pada kelompok tikus sehat, kontrol positif (Povidone iodine), kelompok kontrol negatif (gel basis), dan kelompok perlakuan (Gel EJP 10% dan 20%)



Gambar 4 .1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

- K1 : Kelompok Tikus dalam keadaan sehat tidak diberi luka eksisi.
- K2 : Kelompok Kontrol Negatif yaitu tikus diberi luka eksisi dengan pemberian base gel (placebo).
- K3 : Kelompok Kontrol Positif yaitu tikus diberi luka eksisi dengan pemberian povidone iodine.
- K4 : Kelompok Perlakuan 1 yaitu tikus diberi luka eksisi dan diberikan gel ekstrak jintan putih (*Cuminum cyminum* L.) 10%.
- K5 : Kelompok Perlakuan 2 yaitu tikus diberi luka eksisi dan diberikan gel ekstrak jintan putih (*Cuminum cyminum* L.) 20%.
- OK1 : Observasi Kelompok Tikus Sehat
- OK2 : Observasi Kelompok Kontrol Negatif
- OK3 : Observasi Kelompok Kontrol Positif
- OK4 : Observasi Kelompok Perlakuan 1
- OK5 : Observasi Kelompok Perlakuan 2

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Subjek Penelitian

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus strain wistar jantan dewasa sehat yang berumur 2 – 3 bulan dan mempunyai berat badan 180 – 220 g.³⁶ Tikus jantan Wistar menjalani adaptasi selama 7 hari.

Tikus ditempatkan pada kandang terpisah dengan suhu 18 – 31°C dan diberi pakan standar.

a. Kriteria Inklusi Penelitian

1. Tikus berumur 2 – 3 bulan,
2. Berat badan 180 – 220 g,
3. Kondisi sehat (Gerak aktif, makan dan minum cukup, tidak ada kelainan morfologi yang tampak)

b. Kriteria Drop Out

Tikus mengalami sakit atau kematian dalam masa penelitian

4.2.2 Besar Sampel

Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian yang dibagi menjadi 5 kelompok berdasarkan rumus Federer $(n-1)(t-1) \geq 15$ yaitu rumus yang digunakan untuk menghitung jumlah minimal sampel per kelompok berdasarkan jumlah kelompok perlakuan, dimana n adalah jumlah unit percobaan (misalnya jumlah tikus dalam satu kelompok perlakuan) dan t adalah jumlah kelompok perlakuan.⁴⁸

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(5-1) \geq 15$$

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

$$n \geq (15 + 4)/4$$

$$n \geq 4,75 \sim n = 5$$

Pada penelitian ini jumlah sampel tiap kelompok ditentukan sebanyak 5 ekor tikus, dan jumlah kelompok sampel ada 5, sehingga penelitian ini membutuhkan 25 ekor tikus. Untuk mengantisipasi *lost of follow* maka dilakukan koreksi dengan rumus : $n / 1-DO$,⁴⁹ dimana proporsi unit eksperimen yang hilang atau drop out sebanyak 10%, maka :

$$n \text{ akhir tiap kelompok} = n / 1-DO$$

$$n = 4 / 1-10\%$$

$$n = 5,5 \sim 6$$

jumlah sampel dalam setiap kelompok adalah 6 ekor tikus, sehingga untuk 5 kelompok diperlukan sampel sebanyak 30 ekor.

4.2.3 Teknik Pengambilan Sampel Penelitian

Pengambilan sampel pada penelitian ini dengan menggunakan Teknik *probability sampling* dengan cara pengambilan sampel dalam populasi yang mempunyai kesempatan yang sama untuk dipilih menjadi sampel. Sistem yang digunakan yaitu pengambilan sampel secara acak dan sangat sederhana (*simple random sampling*).

4.3 Variabel Penelitian

1) Variabel Bebas:

Gel topikal berbahan ekstrak jintan putih dengan konsentrasi 10% dan 20%.

2) Variabel Terikat:

Kadar IL-1 β dan Kadar VEGF jaringan kulit

4.4 Definisi Operasional

4.4.1 Gel Ekstrak Jintan Putih (GEJP)

Hasil ekstraksi Jintan Putih menggunakan etanol 40% yang selanjutnya dibuat sediaan menggunakan gel basis dengan konsentrasi 10% dan 20% Gel ekstrak Jintan putih dioleskan sebanyak 0,2 mg dua kali sehari pada punggung tikus selama 5 hari.

Unit : mg

Skala : Ordinal

4.4.2 Kadar Interlukin-1 Beta (IL-1 β)

Kadar IL-1 β adalah kadar IL-1 β dalam sampel jaringan kulit tikus setelah perlakuan luka eksisi dan diberikan gel EJP selama 5 hari yang dinyatakan dalam satuan pg/mL. Sampel jaringan kulit diambil pada hari ke-6. Pemeriksaan kadar IL-1 β menggunakan teknik ELISA, menggunakan ELISA kit reagen Rat IL-1 β ELISA kit.

Skala : Rasio

4.4.3 Kadar *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF)

Kadar VEGF adalah kadar VEGF dalam sampel jaringan kulit tikus setelah perlakuan luka eksisi dan diberikan gel EJP selama 5 hari yang

dinyatakan dalam satuan pg/mL. Sampel jaringan kulit diambil pada hari ke-6. Pemeriksaan kadar VEGF menggunakan metode ELISA, menggunakan ELISA kit reagen Rat VEGF ELISA kit.

Skala : Rasio

4.5 Alat dan Bahan

4.5.1 Alat

- Timbangan analitik digital
- Alat bedah kecil (scalpel, pinset, gunting)
- Alat anestesi
- Centrifuge
- Vortex
- Mikropipet dan tip
- Tabung Eppendorf
- Alat semprot topikal
- Inkubator
- Cooler box
- Kamera digital untuk dokumentasi luka
- Mikroskop dan alat dokumentasi mikroskopis
- ELISA Reader
- punch biopsi diameter 8mm
- Plester tegaderm

4.5.2 Bahan

- Tikus Wistar jantan (umur 2–3 bulan, berat badan 180–220 gram)
- Propilen glikol, gliserin, dan DMDM hydantoin
- Ekstrak jintan putih hasil metode UAE
- Povidone iodine salep
- Reagen ELISA IL-1 β , VEGF
- Larutan anestesi (Ketamin dan Xylazine)
- Alkohol 70%, kapas steril, dan peralatan desinfeksi
- Larutan NaCl fisiologis 0,9%
- Buffer fosfat (PBS)

4.6 Cara Penelitian

4.6.1 Perizian Ethical Clearance

Penelitian terhadap hewan percobaan dilakukan setelah mendapatkan *ethical clearance* dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

4.6.2 Persiapan Ekstrak

1) Prosedur Pembuatan Ekstrak Jintan Putih

- a) Biji kering jintan putih digiling hingga menjadi serbuk lalu diayak menggunakan ayakan ukuran 425 μm dan 180 μm .

- b) Alat ekstraksi UAE disiapkan dengan frekuensi 40 kHz, daya ultrasonik 250 W, dan Volume bak 10L.
- c) Ekstraksi serbuk biji jintan putih dengan menggunakan etanol 40%, suhu 39°C selama 51 menit dengan perbandingan serbuk dan pelarut sebesar 1:20 di *ultrasonic bath*.
- d) Setelah sonikasi, campuran disaring dengan lertas saring whatman No.1 menggunakan corong Buchner dibawah vakum.
- e) Hasil saringan kemudian di rotary evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental biji jintan putih.¹⁵

2) Prosedur Pembuatan Gel Ekstrak Jintan Putih

- a) EJP ditimbang sesuai konsentrasi yaitu 10% dan 20% yang masing-masing untuk setiap 100 g total gel.
- b) Ekstrak Jintan putih dilarutkan dalam sedikit pelarut (air suling/etanol) agar tercampur dengan mudah pada basis gel.
- c) Gel basis dibuat dengan cara: Carbopol 940, yang ditimbang sebanyak 2% kemudian didispersikan dalam air bebas CO₂ di dalam mortar. Larutan ini dibiarkan mengembang sebelum diaduk perlahan hingga membentuk massa gel yang jernih. Propilen glikol, gliserin, dan DMDM hydantoin ditambahkan secara bertahap dengan pengadukan perlahan untuk memastikan homogenitas larutan.

- d) Larutan ekstrak dicampurkan ke dalam gel basis, kemudian diaduk hingga tercampur merata sehingga didapatkan konsentrasi yang konsisten dalam gel.
- e) TEA (Triethanolamine) ditambahkan setetes demi setetes sambil diaduk untuk mengatur pH gel hingga berada dikisaran 5,5 – 6,5 (pH Kulit).
- f) Gel dimasukkan kedalam wadah steril dan kedap udara dan disimpan pada suhu ruang/ lemari pendingin.⁵⁰

4.6.3 Pembagian Kelompok

Kelompok perlakuan dibagi menjadi 5 kelompok dan tiap kelompok masing-masing terdiri dari 6 ekor, sebagai berikut :

- K1 : Kelompok Tikus dalam keadaan sehat tidak diberi luka eksisi.
- K2 : Kelompok Kontrol Negatif yaitu tikus diberi luka eksisi dengan pemberian base gel (placebo).
- K3 : Kelompok Kontrol Positif yaitu tikus diberi luka eksisi dengan pemberian povidone iodine.
- K4 : Kelompok Perlakuan 1 yaitu tikus diberi luka eksisi dan diberikan gel ekstrak jintan putih (*Cuminum cyminum* L.) 10%.
- K5 : Kelompok Perlakuan 2 yaitu tikus diberi luka eksisi dan

diberikan gel ekstrak jintan putih (*Cuminum cyminum* L.) 20%.

4.6.4 Persiapan Hewan Uji

1) Pembuatan luka eksisi

Tikus yang sudah diadaptasi selama 7 hari, dibius dengan campuran ketamin (60mg/kgBB) dan xylazine (20mg/kgBB).⁵¹ Permukaan kulit yang telah bersih diberi Povidone Iodine untuk menghindari infeksi selama pembuatan luka. Pembuatan luka dilakukan dengan menggunakan eksisi punch biopsy melingkar dengan ketebalan penuh dengan diameter 8 mm.²⁶ Tikus kemudian diberikan perlakuan sesuai dengan kelompoknya.

2) Pemberian gel EJP

Gel EJP diberikan pada kelompok perlakuan di area luka eksisi sebanyak 2 kali sehari selama 5 hari.

3) Pengambilan sampel jaringan kulit tikus setelah pemberian perlakuan

- a) Anestesi dan eutanasi tikus sesuai protokol etis, jaringan kulit diambil dari area luka menggunakan gunting dan pinset steril,
- b) Potong jaringan kulit dengan hati-hati,

- c) Cuci jaringan kulit menggunakan buffer PBS dingin untuk menghilangkan darah dan kontaminan,
- d) Simpan sementara jika jaringan tidak dapat segera diproses, dibekukan dengan snap freezing menggunakan nitrogen cair, lalu disimpan di freezer (-80°C)

4) Prosedur preparasi jaringan kulit tikus sebelum analisis metode ELISA

- a) Jaringan di homogenisasi dengan menyiapkan buffer lisis dingin (RIPA buffer) dengan menambahkan protease inhibitor sesuai dosis rekomendasi produsen,
- b) Potong jaringan menjadi potongan kecil (1-2 mm) dengan gunting steril untuk mempermudah homogeinsasi.
- c) Potongan jaringan dimasukkan kedalam tabung microcentifuge yang berisi 500 – 1000 mikroliter buffer lisis dingin.
- d) Homogenisasi jaringan dengan :
 - Mortar dan pestle : Nitrogen cair ditambahkan untuk menjaga suhu dingin,
 - Homogenizer elektrik : Gunakan kecepatan sedang-tinggi hingga jaringan menjadi halus
- e) Inkubasi homogenate pada suhu 4°C selama 30-60 menit dengan pengocokan berkala (vortex setiap 10 menit).

f) Homogenat di sentrifugasi pada 12.000-14.000 rpm selama 15-20 menit pada suhu 4°C.

g) Setelah sentrifugasi, akan terbentuk 3 lapisan :

- Supernatan (mengandung protein terlarut, termasuk IL-1 β dan VEGF)
- Lapisan tengah (debris jaringan)
- Pelet (material tidak larut)

Supernatan diambil secara hati-hati menggunakan pipet steril, hindari mengganggu lapisan debris atau pelet dan supernatant dipindahkan ke tabung microcentrifuge baru.

h) Supernatan disimpan di freezer (-80°C) hingga siap dianalisis menggunakan ELISA.

5) **Prosedur Analisa kadar IL-1 β dan VEGF dengan metode**

ELISA

Sampel jaringan kulit yang diperoleh kemudian dianalisis kadar IL-1 β dan VEGF menggunakan metode ELISA, mengikuti prosedur yang dilampirkan dalam produk menggunakan microplate reader dengan Panjang gelombang 450nm. Tahapan pemeriksaan sebagai berikut :

a) Pembuatan standard

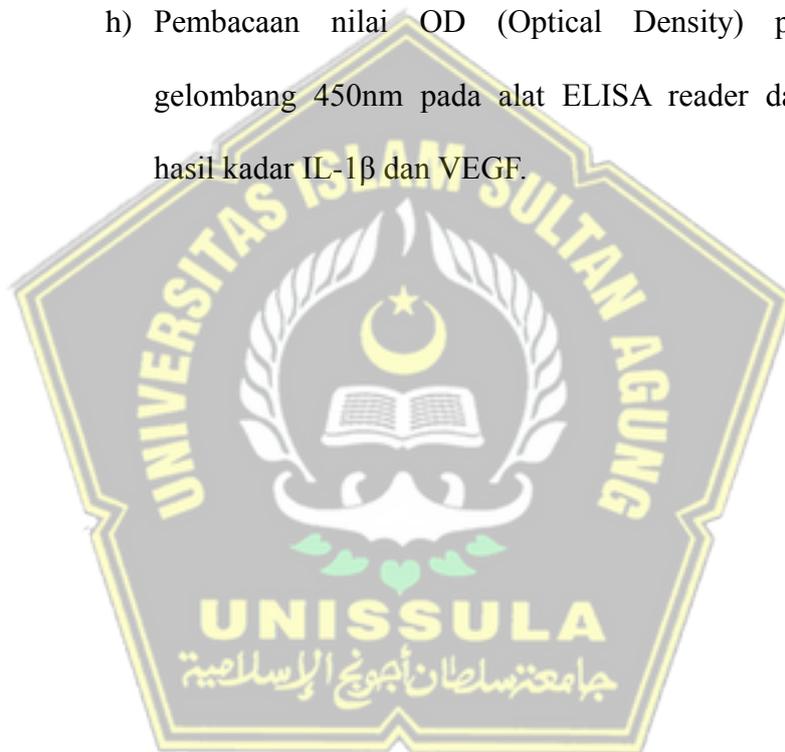
- Sepuluh sumuran pada microplate disiapkan,

- 100 μL cairan standar dan 50 μL diluent standar dicampur ke sumuran 1 dan 2 (campuran 1),
 - 100 μL campuran 1 dan 50 μL diluent standar dicampur ke sumuran 3 dan 4 (campuran 2),
 - 100 μL campuran 2 dan 50 μL diluent standar dicampur ke sumuran 5 dan 6 (campuran 3),
 - 100 μL campuran 3 dan 50 μL diluent standar dicampur ke sumuran 7 dan 8 (campuran 4).
- b) Antibodi ditambahkan dan dinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C , larutan pencuci dan aq dest dicampurkan sebanyak tiga puluh kali, dan cuci sumuran sebanyak lima kali dengan larutan pencuci yang telah disiapkan.
- c) Buffer penghalang ditambahkan agar antigen menempel pada plat selama 60 menit pada suhu 37°C atau selama semalam pada suhu 4°C
- d) Sampel dimasukkan sebanyak 100 μL ke tiap sumuran, Inkubasi selama 120 menit pada suhu ruangan.

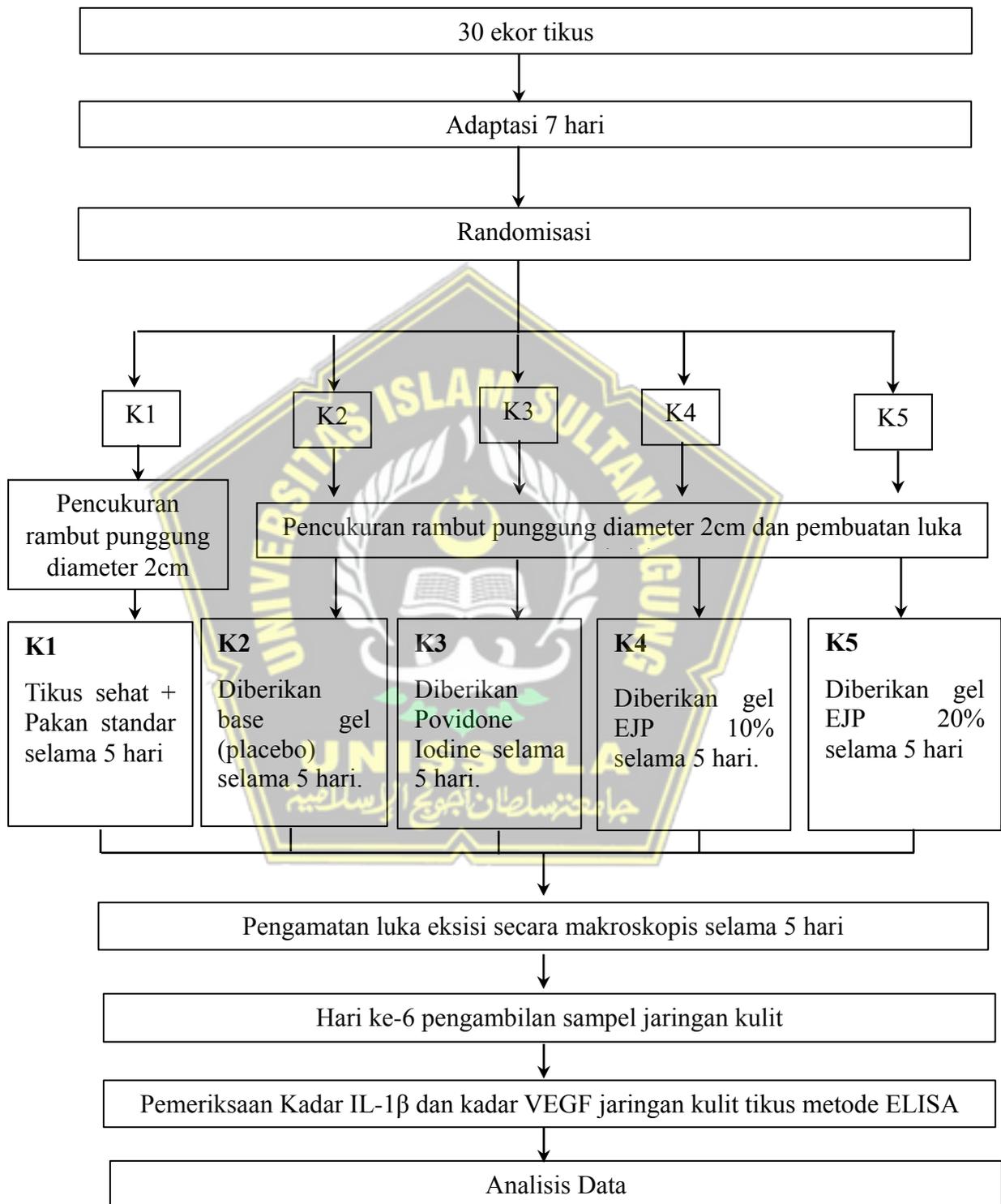
Antibodi pada tiap sumuran ditambahkan sebanyak 100 μL biotinylated antibody pada tiap sumuran.

- e) Plate diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C atau selama semalam pada suhu 4°C . Pencucian pada plate dilakukan sebanyak 5 kali dan ditambahkan 100 μL ABC Solution pada tiap sumuran lalu inkubasi selama 30 menit dengan suhu 37°C .

- f) HRP-Conjugate dan TMB ditambahkan masing-masing sebanyak 100 μ L pada tiap sumuran dan inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C.
- g) Larutan stop solution ditambahkan sebanyak 100 μ L pada tiap sumuran sampai terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning.
- h) Pembacaan nilai OD (Optical Density) pada Panjang gelombang 450nm pada alat ELISA reader dan didapatkan hasil kadar IL-1 β dan VEGF.



4.7 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Alur Penelitian

4.8 Analisis Data

Data yang sudah didapat, diproses, disunting, ditabulasi, dan dianalisis deskriptif. Kemudian dilakukan uji normalitas data dengan uji *Shapiro Wilk* dan uji varian data dengan uji *Levene*. Data yang memiliki sebaran data normal dan varian data sama selanjutnya dilakukan uji beda dengan uji *One Way Anova*. Nilai $p < 0,05$ menunjukkan ada perbedaan pada rata-rata kadar dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok. Uji *Post Hoc Tukey* digunakan untuk membandingkan setiap pasangan kelompok secara langsung, guna mengidentifikasi perbedaan yang signifikan antara kelompok-kelompok yang ada. Pengolahan analisis data dilakukan dengan menggunakan *SPSS for Windows*.

4.9 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama periode Mei hingga Juli 2025 dan melibatkan tiga lokasi utama sebagai tempat pelaksanaan kegiatan laboratorium, yaitu:

1. Laboratorium Terpadu IBL (*Integrated Biomedical Laboratory*), Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA), Semarang. Seluruh rangkaian aktivitas hewan uji dilaksanakan di laboratorium ini, yang meliputi proses aklimatisasi tikus Wistar, pembuatan model luka eksisi, pemberian sediaan gel ekstrak jintan putih secara topikal, hingga pengambilan sampel jaringan kulit. Selain itu, pengukuran kadar IL-1 β

dan VEGF dilakukan menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) di fasilitas laboratorium yang sama.

2. Laboratorium Fitokimia dan Analisis Bahan Alam, Fakultas Farmasi Universitas Indonesia (FF UI), Depok.

Kegiatan analisis senyawa bioaktif dalam ekstrak jintan putih dilakukan di laboratorium ini. Uji fitokimia kualitatif dilakukan untuk mengidentifikasi golongan senyawa aktif seperti terpenoid dan flavonoid. Uji kuantitatif selanjutnya digunakan untuk mengukur kadar cuminaldehyde, quercetin, dan apigenin, serta kandungan mineral seperti tembaga (Cu), seng (Zn), dan mangan (Mn), dengan memanfaatkan teknik kromatografi dan spektrometri.

3. Laboratorium Formulasi dan Teknologi Sediaan, Fakultas Farmasi UNISSULA, Semarang.

Ekstraksi jintan putih dilakukan dengan metode ekstraksi bantuan ultrasonik (*Ultrasonic-Assisted Extraction/UAE*) menggunakan pelarut kombinasi etanol dan air (40:60). Proses selanjutnya berupa formulasi sediaan gel topikal dilakukan untuk menghasilkan konsentrasi akhir 10% dan 20%. Penyesuaian formula dan uji kestabilan sediaan juga dilaksanakan di laboratorium ini untuk menjamin mutu sediaan sesuai standar topikal yang berlaku.

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

Penelitian tentang analisis kadar IL-1 β dan VEGF pada jaringan kulit tikus Wistar setelah induksi luka eksisi dilakukan untuk mengevaluasi efek pemberian gel topikal ekstrak jintan putih (*Cuminum cyminum* L.) secara *in vivo*. Penelitian ini berlangsung pada periode Mei hingga Juli 2025. Pelaksanaan penelitian di tiga lokasi, yaitu Laboratorium Terpadu IBL (*Integrated Biomedical Laboratory*) Fakultas Kedokteran UNISSULA Semarang, Laboratorium Fitokimia dan Analisis Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Indonesia (FF UI) Depok, dan Laboratorium Formulasi dan Teknologi Sediaan Fakultas Farmasi UNISSULA Semarang.

Sebanyak 30 ekor tikus jantan galur Wistar (berumur 2–3 bulan dengan berat badan 180–220 gram) digunakan sebagai hewan uji. Tikus-tikus tersebut dibagi ke dalam lima kelompok perlakuan, masing-masing terdiri atas 6 ekor. Namun, hanya 5 ekor pertama dari setiap kelompok yang dimasukkan dalam analisis data, sedangkan 1 ekor digunakan sebagai sampel cadangan, mengacu pada rumus Federer bahwa minimal per kelompok adalah 5 ekor tikus. Kelompok penelitian terdiri dari:

- K1: kelompok tikus sehat (kontrol tanpa luka eksisi),
- K2: kelompok kontrol negatif (luka eksisi diberi base gel),

- K3: kelompok kontrol positif (luka eksisi diberi povidone iodine),
- K4: kelompok perlakuan 1 (luka eksisi diberi gel EJP 10%),
- K5: kelompok perlakuan 2 (luka eksisi diberi gel EJP 20%).

Pengambilan sampel jaringan kulit dilakukan pada hari ke-6 setelah pemberian perlakuan. Selanjutnya, analisis kadar IL-1 β dan VEGF dilakukan menggunakan metode ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), dengan pembacaan nilai *Optical Density* (OD) pada panjang gelombang 450 nm untuk menentukan konsentrasi masing-masing biomarker.

5.1.1. Hasil Uji Standarisasi Ekstrak Jintan Putih

Uji standarisasi dilakukan sebagai langkah awal untuk memastikan mutu ekstrak etanol dari biji jintan putih (*Cuminum cyminum* L.) yang digunakan dalam penelitian. Uji yang dilakukan adalah uji kadar air dan uji kadar abu total pada ekstrak jintan putih. Pelaksanaan uji standarisasi dilakukan pada tanggal 30 Juni hingga 4 Juli 2025 di Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA), Semarang. Hasil lengkap dari pengujian tersebut disajikan pada tabel berikut:

Tabel 5.1 Uji Standarisasi Ekstrak Jintan Putih

Parameter Uji	Syarat FHI	Hasil Pengujian	Kesimpulan
Kadar Air	< 19,1%	5,59%	Memenuhi Syarat
Kadar Abu Total	< 7,3%	5,3%	Memenuhi Syarat

Sumber: Laporan Hasil Uji Ekstrak Etanol Jintan Putih (*Cuminum cyminum* L.) dari Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Islam Sultan Agung (Unissula), 2025

Berdasarkan hasil yang ditampilkan pada tabel 5.1, diketahui bahwa ekstrak etanol biji jintan putih telah memenuhi kedua parameter uji yang ditetapkan sebagai syarat kualitas, yakni kadar air dan kadar abu total. Hasil pengujian menunjukkan bahwa kadar air dalam ekstrak sebesar 5,59%, jauh di bawah batas maksimal yang diperbolehkan yaitu 19,1%, sedangkan kadar abu total tercatat sebesar 5,3%, masih berada dalam ambang aman yaitu kurang dari 7,3%.

Hasil uji standarisasi ini mengonfirmasikan bahwa ekstrak etanol dan air pada jintan putih yang digunakan telah memenuhi standar mutu yang diperlukan untuk formulasi sediaan topikal. Dengan demikian, ekstrak tersebut dinyatakan layak dan aman untuk digunakan sebagai bahan aktif dalam gel topikal yang diaplikasikan pada model tikus Wistar dengan luka eksisi.

5.1.2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Jintan Putih

Uji skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol dan air pada biji jintan putih (*Cuminum cyminum* L.) dilaksanakan pada tanggal 24 Juni 2025 di Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Islam Sultan

Agung (UNISSULA), Semarang. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk mengidentifikasi kandungan senyawa bioaktif dalam ekstrak yang berpotensi berperan dalam proses biologis, khususnya yang berkaitan dengan regulasi inflamasi dan angiogenesis pada proses penyembuhan luka.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia ekstrak etanol dan air pada jintan putih yang dilakukan dalam penelitian ini, beberapa senyawa bioaktif terdeteksi dalam ekstrak tersebut. Berikut adalah hasil dari masing-masing parameter uji yang dilakukan:

No.	Parameter Uji	Hasil
1.	Saponin	Terbentuk busa yang stabil dan berbuih pada tabung reaksi
2.	Flavonoid	Perubahan warna menjadi merah jingga pada larutan
3.	Tanin	Terbentuk endapan berwarna kehitaman
4.	Alkaloid	Terbentuk endapan berwarna kuning atau kecoklatan pada tabung reaksi
5.	Steroid/Triterpenoid	Perubahan warna menjadi merah atau keunguan pada tabung reaksi
6.	Fenolik	Terbentuk warna merah kehitaman pada larutan

Sumber: Hasil Uji Ekstrak Jintan Putih di Laboratorium Fakultas Farmasi, UNISSULA.

Berdasarkan keseluruhan hasil skrining, terbukti bahwa ekstrak etanol 40% : air 60% pada jintan putih mengandung sejumlah senyawa fitokimia penting seperti saponin, flavonoid, tanin, alkaloid,

steroid/triterpenoid, dan fenolik, yang memiliki potensi farmakologis mendukung proses penyembuhan luka. Mekanisme kerja senyawa-senyawa tersebut secara sinergis dapat memengaruhi penurunan kadar IL-1 β sebagai mediator inflamasi dan peningkatan kadar VEGF sebagai indikator angiogenesis. Oleh karena itu, hasil skrining ini memberikan dasar ilmiah yang kuat bagi penggunaan gel ekstrak jintan putih dalam penelitian ini, khususnya dalam konteks pengaruhnya terhadap regulasi sitokin dan faktor pertumbuhan pada luka eksisi model tikus Wistar.

5.1.3. Hasil Pemeriksaan Kadar IL-1 β pada Jaringan Kulit

Hasil analisis rata-rata kadar IL-1 β pada tiap kelompok hari ke-6 setelah perlakuan ditunjukkan pada tabel 5.2 sebagai berikut.

Tabel 5.2 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar IL-1 β dan *One Way* ANOVA

Kelompok	Tikus Sehat (K1)	Kontrol Negatif (K2)	Kontrol Positif (K3)	Gel EJP 10% (K4)	Gel EJP 20% (K5)	<i>P</i> value
Kadar IL-1β ng/mL						
Mean	11,538	18,056	8,624	15,984	20,742	
SD	4,067	1,665	2,301	3,296	1,343	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,199	0,102	0,216	0,890	0,963	
<i>Levene Test</i>						0,214
<i>One Way ANOVA</i>						<0,001

Keterangan:

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

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

One Way ANOVA = Terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ($p < 0,05$)

Analisis kadar IL-1 β dilakukan untuk menilai respons inflamasi yang muncul akibat luka eksisi serta untuk mengevaluasi pengaruh pemberian gel ekstrak jintan putih (EJP) dalam memodulasi kadar sitokin proinflamasi tersebut. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa rata-rata kadar IL-1 β terendah ditemukan pada kelompok Kontrol Positif (K3), yaitu sebesar $8,624 \pm 2,301$ ng/mL, diikuti oleh kelompok Tikus Sehat (K1) sebesar $11,538 \pm 4,067$ ng/mL. Sebaliknya, kadar tertinggi justru ditemukan pada kelompok Gel EJP 20% (K5) sebesar $20,742 \pm 1,343$ ng/mL diikuti oleh kelompok kontrol negatif $18,056 \pm 1,665$ ng/mL.

Uji normalitas data dilakukan menggunakan metode *Shapiro-Wilk* dengan hasil nilai p yang bervariasi antar kelompok, yaitu antara 0,102 hingga 0,963. Seluruh nilai $p > 0,05$, yang mengindikasikan bahwa data dari masing-masing kelompok berdistribusi normal dan memenuhi syarat untuk dianalisis secara parametrik.

Selanjutnya, uji homogenitas varians menggunakan *Levene test* menghasilkan nilai signifikansi sebesar 0,214 ($p > 0,05$). Temuan tersebut menunjukkan bahwa data bersifat homogen, yang berarti varians antar kelompok setara.

Uji *One Way ANOVA* digunakan untuk menguji perbedaan antara rata-rata kadar IL-1 β antar kelompok yang diuji. Hasil *ANOVA* menunjukkan nilai $p < 0,001$, yang berarti terdapat perbedaan signifikan antar kelompok. Nilai p yang sangat kecil ini menunjukkan

bahwa perlakuan yang diberikan pada setiap kelompok berperan dalam mengubah kadar IL-1 β yang diukur. Perbedaan yang signifikan antara kelompok-kelompok ini mencerminkan bahwa perubahan kadar IL-1 β disebabkan oleh perbedaan jenis perlakuan yang diberikan, dengan kelompok kontrol negatif dan positif menunjukkan perbedaan kadar IL-1 β yang mencolok dibandingkan dengan kelompok perlakuan.

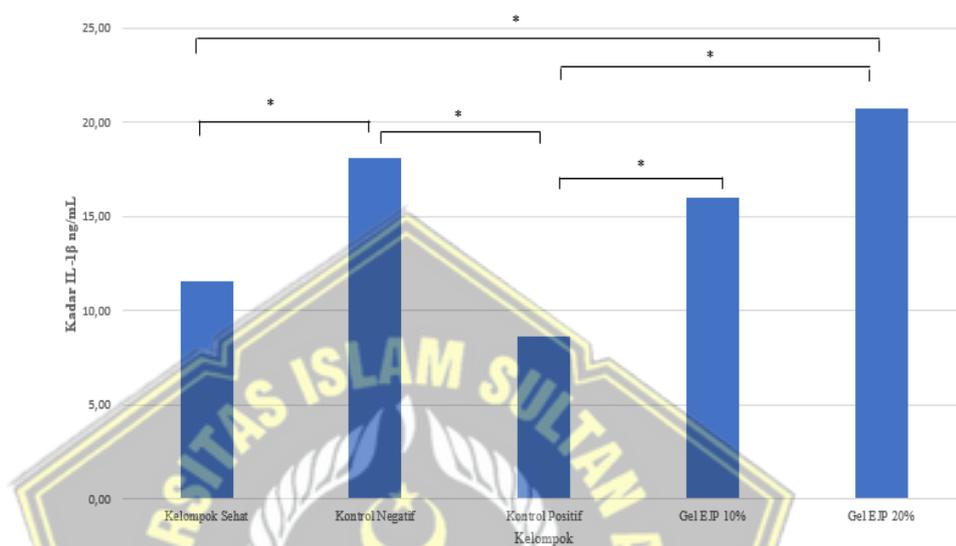
Analisis dilanjutkan dengan uji *post-hoc Tukey* untuk mengidentifikasi pasangan kelompok yang memiliki perbedaan signifikan. Pemilihan uji ini didasarkan pada hasil uji *ANOVA* yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan. Uji *Tukey* dipilih karena kemampuannya dalam melakukan perbandingan berpasangan antar kelompok dengan mengendalikan potensi kesalahan yang dapat muncul akibat banyaknya perbandingan yang dilakukan. Uji *Tukey* sangat efektif untuk mengidentifikasi kelompok mana yang berbeda secara signifikan, sehingga hasil analisis dapat diinterpretasikan dengan lebih tepat. Hasil dari analisis menggunakan Uji *Tukey* ini dapat dilihat pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil Uji *Post Hoc Tukey* setelah Perlakuan Hari ke-6 terhadap Rata-rata Kadar IL-1 β

Kelompok	K1	K2	K3	K4	K5
K1	-	0,009*	0,463	0,114	<0,001*
K2		-	<0,001*	0,751	0,541
K3			-	0,003*	<0,001*
K4				-	0,080
K5					-

Keterangan: *Bermakna $p < 0,05$

Untuk mempermudah visualisasi perbedaan kadar IL-1 β antar kelompok, maka data pada Tabel 5.2 dan Tabel 5.3 ditampilkan dalam Gambar 5.1.



Gambar 5.1 Perbandingan Kadar IL-1 β antar Kelompok Perlakuan

Berdasarkan hasil Uji *Post Hoc Tukey* yang tertera pada Tabel 5.3, menunjukkan perbedaan signifikan kadar IL-1 β antara Kelompok Sehat dan Kontrol Negatif, perbedaan signifikan tersebut bernilai $p=0,009$ ($p<0,05$).

Kadar IL-1 β Kelompok Sehat dengan Kelompok gel EJP 20% juga berbeda signifikan ($p<0,001$). Perbandingan antara Kontrol Negatif dan Kontrol Positif, menunjukkan nilai $p<0,001$, yang berarti terdapat perbedaan signifikan antara kedua kelompok ini. Pada kelompok Kontrol Negatif dibandingkan dengan kelompok Gel EJP 10% maupun Gel EJP 20%, didapatkan nilai $p>0,05$ dimana hasil analisis tersebut menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang

bermakna pada kadar IL-1 β pada kontrol negatif dengan perlakuan EJP.

Pada kelompok Kontrol Positif menunjukkan kadar IL-1 β lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan kelompok Gel EJP 10% dengan $p=0,003$ dan Gel EJP 20% dengan $p<0,001$. Pada kelompok Gel EJP 10% menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok Gel EJP 20% ($p=0,080$). Pada kelompok yang diberi Gel EJP 10%, kadar IL-1 β relatif lebih rendah dibandingkan dengan kelompok yang diberi Gel EJP 20%.

5.1.4. Hasil Pemeriksaan Kadar VEGF Jaringan Kulit

Hasil analisis rata-rata kadar VEGF pada tiap kelompok hari ke-6 setelah perlakuan ditunjukkan pada tabel 5.4 sebagai berikut:

Tabel 5.4 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar VEGF dan Uji One-Way ANOVA

Kelompok	Tikus Sehat (K1)	Kontrol Negatif (K2)	Kontrol Positif (K3)	Gel EJP 10% (K4)	Gel EJP 20% (K5)	<i>P value</i>
Kadar VEGF ng/mL						
Mean	1470,41	927,20	1302,43	1387,98	1423,44	
SD	125,95	109,68	173,54	108,80	77,47	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,603	0,311	0,410	0,476	0,168	
<i>Levene Test</i>						0,333
<i>One-Way ANOVA</i>						<0,001

Keterangan:

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

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

One-Way ANOVA = Terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ($p<0,05$)

Analisis deskriptif terhadap kadar VEGF menunjukkan bahwa Kelompok Sehat memiliki rata-rata kadar VEGF tertinggi sebesar $1470,41 \pm 125,95$ ng/mL, diikuti oleh kelompok Gel EJP 20% sebesar $1423,44 \pm 77,47$ ng/mL, dan kelompok Gel EJP 10% sebesar $1387,98 \pm 108,80$ ng/mL. Kadar VEGF terendah diperoleh pada kelompok Kontrol Negatif dengan rata-rata $927,20 \pm 109,68$ ng/mL. Hal ini menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan kadar VEGF pada kelompok yang mendapatkan perlakuan gel ekstrak jintan putih dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

Sebelum dilakukan uji komparatif, dilakukan terlebih dahulu uji normalitas menggunakan metode *Shapiro-Wilk*. Hasil uji menunjukkan bahwa seluruh kelompok memiliki distribusi data yang normal, karena nilai $p > 0,05$ untuk setiap kelompok (K1: 0,603, K2: 0,311, K3: 0,410, K4: 0,476, K5: 0,168).

Pada uji homogenitas varians menggunakan *Levene test* menunjukkan nilai $p = 0,333$ ($p > 0,05$), yang berarti data memiliki varians yang homogen dan memenuhi asumsi untuk analisis *ANOVA*. Uji *One-Way ANOVA* dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan kadar VEGF yang signifikan antar kelompok. Hasil uji menunjukkan nilai $p < 0,001$, yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antar kelompok perlakuan terhadap kadar VEGF.

Analisis dilanjutkan dengan uji *post hoc Tukey* untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan signifikan terhadap kadar VEGF.

Tabel 5.5 Hasil Uji *Post Hoc Tukey HSD* terhadap Rata-rata Kadar VEGF

Kelompok	K1	K2	K3	K4	K5
K1	-	<0,001*	0,236	0,825	0,973
K2		-	<0,001*	<0,001*	<0,001*
K3			-	0,805	0,542
K4				-	0,990
K5					-

Keterangan: * Bermakna $p < 0,05$

Untuk mempermudah visualisasi perbedaan kadar VEGF antar kelompok, data pada Tabel 5.4 dan Tabel 5.5 ditampilkan pada Gambar 5.2 di bawah ini.



Gambar 5.2 Perbandingan Kadar VEGF antar Kelompok Perlakuan

Hasil uji *Tukey HSD* sebagaimana ditampilkan pada Tabel 5.5 menunjukkan bahwa Kelompok Sehat memiliki perbedaan yang bermakna secara statistik dibandingkan dengan Kontrol Negatif dengan nilai $p < 0,001$. Hal ini mengindikasikan bahwa kadar VEGF luka eksisi tanpa perlakuan lebih rendah secara signifikan dibandingkan kondisi normal.

Perbedaan signifikan juga ditemukan antara kelompok Kontrol Negatif dengan kelompok Kontrol Positif, Gel EJP 10%, dan Gel EJP 20% dengan nilai p masing-masing adalah $p < 0,001$. Temuan ini menunjukkan bahwa pemberian povidone iodine sebagai terapi standar serta gel ekstrak jintan putih sebagai terapi perlakuan, baik pada konsentrasi 10% maupun 20% dapat membuat kadar VEGF menjadi lebih tinggi secara signifikan dibandingkan kelompok Kontrol Negatif. Hal ini mendukung peran potensial ekstrak jintan putih dalam merangsang angiogenesis selama fase penyembuhan luka.

Sementara itu, tidak ditemukan perbedaan bermakna antara kelompok Kontrol Positif dengan EJP 10% atau EJP 20%, serta antara kelompok perlakuan EJP 10% dengan EJP 20%, yang menunjukkan bahwa efektivitas gel ekstrak jintan putih dalam meningkatkan kadar VEGF secara statistik setara dengan perlakuan standar dan tidak menunjukkan perbedaan bermakna antar kedua dosis ekstrak.

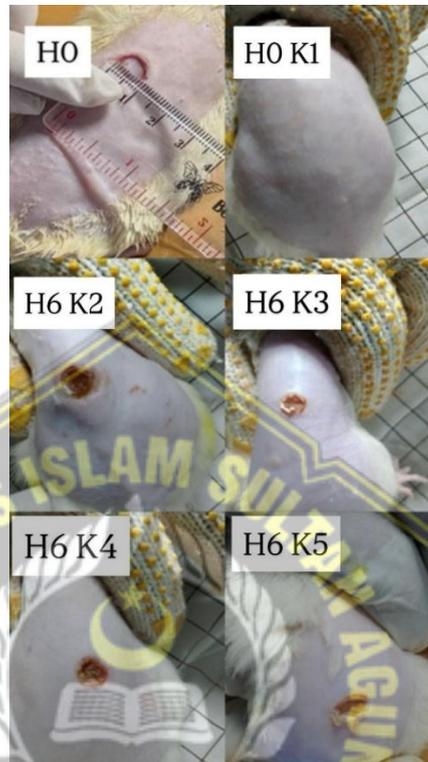
5.1.5. Gambaran Makroskopis pada Luka Eksisi Antar Kelompok

Pengamatan makroskopis luka eksisi dilakukan untuk mengevaluasi kondisi awal luka pada setiap kelompok sebelum perlakuan dimulai. Tujuan dari pemeriksaan ini adalah untuk memastikan bahwa prosedur pembuatan luka eksisi dilaksanakan dengan cara yang konsisten di seluruh hewan uji, sehingga ukuran, bentuk, dan lokasi luka seragam. Pengukuran dilakukan setiap hari mulai dari hari ke-0 (H0) hingga hari ke-6 (H6). Kelompok K1 sebagai kontrol sehat tidak diberi perlakuan eksisi, oleh karena itu tidak dicatatkan ukuran luka dan hanya digunakan sebagai referensi.

Pada hari ke-0, semua kelompok dari kelompok sehat, kontrol negatif, kontrol positif, dan kelompok perlakuan EJP 10% dan EJP 20% memiliki ukuran luka yang seragam, yaitu 8 mm, sesuai dengan prosedur awal pembuatan luka. Luka eksisi pada kulit hewan terlihat jelas dan terdapat sedikit perdarahan, dengan bentuk lingkaran atau oval yang terpotong rapi pada lapisan epidermis dan sebagian dermis. Jaringan di sekitar luka tampak normal, meskipun ada sedikit pembengkakan yang menunjukkan respons inflamasi awal.

Perbedaan yang terlihat pada tahap ini terutama terletak pada kondisi permukaan luka dan warna jaringan, yang dapat menjadi tanda awal dari proses penyembuhan yang akan terus dipantau pada hari-hari berikutnya. Pengamatan makroskopis pada hari ke-6 pasca luka

eksisi menunjukkan percepatan proses penyembuhan dan penutupan luka, seperti yang terlihat pada gambar 5.3.



Gambar 5.3 Gambaran Makroskopis Hari ke-0 dan Gambaran Makroskopis Luka Eksisi pada Hari ke-6 Antar Kelompok Perlakuan (K1: Tikus sehat, K2: Kontrol negatif, K3: Kontrol positif, K4: Gel EJP 10%, K5: Gel EJP 20%)

Pemantauan proses penyembuhan luka dilakukan setiap hari mulai dari hari ke-0 (H0) hingga hari ke-6 (H6), dengan pengukuran diameter luka secara langsung. Hasil pengukuran secara deskriptif menunjukkan adanya pengurangan ukuran luka yang terjadi secara bertahap pada kelompok perlakuan setiap harinya.

Pada hari ke-0, seluruh hewan uji pada kelompok Kontrol Negatif, Kontrol Positif, Gel EJP 10%, dan Gel EJP 20% diberikan perlakuan luka eksisi dengan diameter awal seragam sebesar 8 mm.

Kelompok Sehat tidak mengalami prosedur eksisi, sehingga tidak memiliki luka dan berfungsi sebagai acuan fisiologis jaringan kulit normal.

Berdasarkan pengamatan visual dan pengukuran deskriptif, terjadi penurunan bertahap pada diameter luka eksisi selama periode observasi, dengan laju penyembuhan berbeda antar kelompok. Pada hari ke-6, kelompok kontrol negatif menunjukkan ukuran luka yang lebih besar dibandingkan kelompok lain dengan pembengkakan jaringan yang terlihat jelas di sekitar luka. Diameter luka pada kelompok ini mengalami penurunan sedikit, dari 8 mm pada hari pertama (H0) menjadi 6 mm pada hari keenam (H6).

Kelompok Kontrol Positif lalu diikuti Kelompok Gel EJP 20% menunjukkan perkembangan penyembuhan luka yang lebih baik dibandingkan dengan kelompok lainnya. Luka yang terbentuk tampak mengecil tanpa adanya pembengkakan pada jaringan sekitar, dan tepi luka tampak lebih rata dan teratur. Diameter luka berkurang dari 8 mm pada hari pertama (H0) menjadi hanya 3 mm (Kontrol Positif) dan 4 mm (kelompok Gel EJP 20%) pada hari keenam (H6). Hal ini menunjukkan bahwa gel EJP 20% sangat efektif dalam mempercepat penyembuhan luka, bahkan setara dengan kontrol positif, dengan pengurangan inflamasi yang signifikan dan regenerasi jaringan yang lebih cepat.

Pada kelompok Gel EJP 10%, diameter luka juga menunjukkan penurunan dari 8 mm pada hari pertama (H0) menjadi 5 mm pada hari keenam (H6). Luka terlihat mengecil dengan tidak adanya pembengkakan pada jaringan sekitar, yang menandakan bahwa kelompok Gel EJP 10% memiliki efek yang baik dalam mempercepat penyembuhan luka dan mengurangi inflamasi.

5.2. Pembahasan

5.2.1. Pembahasan Uji Standarisasi Ekstrak Jintan Putih

Pengujian standarisasi ekstrak etanol: air pada biji jintan putih merupakan langkah penting untuk menjamin kualitas bahan yang digunakan dalam penelitian ini. Pengujian ini bertujuan memastikan bahwa ekstrak yang digunakan memenuhi standar yang ditetapkan, baik dari segi kandungan senyawa aktif maupun komponen lain yang dapat memengaruhi stabilitas, efektivitas, dan keamanan sediaan topikal yang digunakan pada model tikus Wistar dengan luka eksisi. Dua parameter utama yang diuji adalah kadar air dan kadar abu total, yang merupakan indikator kualitas fisikokimia dari ekstrak tersebut.

Kadar air dalam ekstrak biji jintan putih ditemukan sebesar 5,59%, yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan batas maksimal yang ditentukan, yaitu 19,1%. Kadar air yang rendah ini menunjukkan bahwa ekstrak memiliki stabilitas yang baik. Hal ini sangat penting karena kadar air yang rendah dapat menghambat

pertumbuhan mikroba dan mencegah degradasi senyawa aktif dalam ekstrak selama proses penyimpanan. Penurunan kadar air umumnya berhubungan dengan kualitas ekstrak yang lebih stabil dan tahan lama. Kadar air yang rendah berhubungan dengan stabilitas fisikokimia yang lebih baik pada produk herbal⁵². Sejumlah studi menunjukkan bahwa bahan dengan kadar air yang rendah cenderung memiliki masa simpan yang lebih panjang tanpa risiko kontaminasi mikroba⁵³.

Kadar abu total yang tercatat sebesar 5,3% juga memenuhi standar yang ditetapkan, yaitu kurang dari 7,3%. Kadar abu total ini mencerminkan kandungan mineral anorganik dalam ekstrak. Kadar abu total yang terkontrol menunjukkan bahwa kandungan mineral dalam ekstrak biji jintan putih berada dalam batas wajar yang krusial untuk menjaga kemurnian dan keamanan bahan yang digunakan. Keberadaan abu total yang tinggi dapat menunjukkan adanya kontaminasi atau penggunaan bahan yang tidak murni, sementara kadar yang terkontrol menunjukkan bahwa ekstrak tersebut aman digunakan sebagai bahan aktif dalam sediaan topikal⁵⁴.

5.2.2. Pembahasan Skrining Fitokimia Ekstrak Jintan Putih

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif yang dapat berkontribusi pada proses penyembuhan luka, khususnya dalam hal pengaturan inflamasi dan angiogenesis.

Skrining fitokimia yang dilakukan pada ekstrak etanol: air pada biji jintan putih berhasil mengidentifikasi beberapa senyawa bioaktif yang berpotensi memainkan peran penting dalam proses penyembuhan luka, terutama dalam mengatur inflamasi dan angiogenesis. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak biji jintan putih mengandung senyawa-senyawa yang diketahui memiliki aktivitas farmakologis yang signifikan, termasuk saponin, flavonoid, tanin, alkaloid, steroid/triterpenoid, dan fenolik⁵⁵. Masing-masing dari senyawa ini memiliki peran kunci dalam mendukung proses penyembuhan luka, baik melalui pengurangan mediator inflamasi (IL-1 β) maupun pembentukan pembuluh darah baru yang diperlukan untuk regenerasi jaringan (peningkatan kadar VEGF)⁵⁶.

Saponin dikenal memiliki efek antiinflamasi dan imunomodulator, yang dapat mempercepat penyembuhan luka dengan menekan infeksi serta memperkuat respons imun lokal.⁵⁷ Flavonoid berperan sebagai antioksidan endogen, mendukung pengaturan sitokin inflamasi seperti IL-1 β , dan berkontribusi terhadap peningkatan faktor pertumbuhan, termasuk VEGF, melalui pengendalian stres oksidatif.⁵⁸ Tanin memiliki fungsi dalam menurunkan inflamasi dan mencegah kolonisasi mikroba, yang mendukung proses regenerasi jaringan luka.⁵⁹

Alkaloid, dengan efek analgesik dan antiinflamasi, berpotensi mengurangi ekspresi mediator inflamasi seperti IL-1 β yang dominan pada fase awal penyembuhan luka. Senyawa ini juga berperan dalam mengurangi inflamasi dan merangsang proliferasi sel, termasuk stimulasi produksi VEGF sebagai bagian dari mekanisme angiogenesis.⁶⁰ Sementara itu, senyawa fenolik membantu mengurangi kerusakan sel akibat radikal bebas dan mempercepat regenerasi jaringan.⁶¹ Dengan demikian, kombinasi senyawa-senyawa ini mendukung proses penyembuhan luka secara komprehensif, mulai dari pengurangan inflamasi, stimulasi angiogenesis, hingga perlindungan sel dari kerusakan.

5.3.3. Pengaruh Pemberian EJP terhadap Kadar IL-1 β

Proses penyembuhan luka merupakan mekanisme biologis kompleks yang terdiri atas empat fase utama, yakni hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling. Transisi yang efektif dari fase inflamasi menuju fase proliferasi merupakan kunci keberhasilan penyembuhan luka. Dua molekul penting yang memainkan peran kritis dalam fase ini adalah IL-1 β dan VEGF⁶².

IL-1 β merupakan sitokin proinflamasi yang dilepaskan oleh neutrofil dan makrofag segera setelah terjadinya cedera jaringan. Fungsi dari IL-1 β adalah merekrut sel imun ke lokasi luka melalui induksi ekspresi molekul adhesi dan peningkatan permeabilitas

vaskular⁶³. IL-1 β juga berfungsi untuk menstimulasi ekspresi enzim matrix metalloproteinases (MMPs), yang berperan dalam remodeling matriks ekstraseluler⁶².

Pada penelitian ini, kelompok sehat menunjukkan hasil dari kadar IL-1 β lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini dikarenakan pada kelompok sehat tidak terdapat luka eksisi sehingga tidak terjadi proses inflamasi lokal. Sebaliknya, pada kelompok kontrol negatif yang hanya diberi gel basis tanpa zat aktif maupun antiseptik menunjukkan hasil kadar IL-1 β yang lebih tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa perlukaan eksisi yang dilakukan pada penelitian ini berhasil menginduksi kondisi perlukaan yang memicu inflamasi lokal, ditandai dengan aktivasi respons imun tubuh dan peningkatan produksi sitokin proinflamasi seperti IL-1 β .

Pada kelompok Kontrol Positif yang diberi *povidone iodine* sebagai antiseptik menunjukkan kadar IL-1 β yang lebih rendah dibandingkan dengan Kontrol Negatif karena *povidone iodine* memiliki efek untuk mengontrol infeksi dan meredakan inflamasi di area luka. Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian *povidone iodine* pada Kontrol Positif mampu mengurangi produksi IL-1 β , yang merupakan sitokin proinflamasi utama dalam proses inflamasi.

Pada Kelompok Sehat didapatkan hasil kadar IL-1 β yang relatif tinggi (11,538 ng/mL) dibandingkan dengan kelompok Kontrol Positif yang diberi *povidone iodine*. Kadar ini bisa lebih tinggi

karena variabilitas biologis yang ada antar individu tikus. Meskipun tikus-tikus ini dianggap sehat, mereka masih dapat mengalami inflamasi subklinis atau stres ringan yang menyebabkan peningkatan kadar IL-1 β , meskipun tidak ada luka atau cedera yang jelas. Variabilitas biologis dalam hal ini berarti bahwa beberapa tikus mungkin memiliki respons imun yang sedikit lebih aktif dibandingkan tikus lainnya, yang mengarah pada perbedaan kadar IL-1 β meskipun mereka berada dalam kelompok yang sama (Kelompok Tikus Sehat). Sebaliknya pada Povidone iodine diketahui memiliki aktivitas antiseptik sekaligus efek antiinflamasi sehingga produksi IL-1 β menjadi lebih rendah. Hal ini mendukung bukti bahwa povidone iodine bersifat antiinflamasi ringan melalui reduksi populasi mikroba dan stres oksidatif lokal⁶⁴

Interleukin-1 β (IL-1 β) merupakan sitokin proinflamasi utama yang dilepaskan selama fase awal penyembuhan luka, khususnya dalam 48–72 jam pertama pascaluka. Pada penelitian ini, kadar IL-1 β pada hari ke 6 menunjukkan kadar tertinggi ditemukan pada kelompok perlakuan gel EJP 20%, diikuti oleh EJP 10%, kontrol negatif (gel basis), kelompok sehat, dan kontrol positif (povidone iodine).

Beberapa faktor yang mempengaruhi hasil penelitian diantaranya adalah variabilitas dalam penelitian. Variabilitas biologis dan variabilitas dalam respon inflamasi terhadap perlakuan dapat

menjadi penyebab utama perbedaan dalam hasil eksperimen. Pada percobaan ini, variabilitas antar individu tikus atau kelompok bisa mempengaruhi hasil pengukuran kadar IL-1 β . Beberapa tikus mungkin memiliki respon inflamasi yang lebih efisien dalam mengatur produksi IL-1 β setelah luka, sedangkan tikus lainnya mungkin menghasilkan lebih banyak IL-1 β .

Variabilitas teknik pengambilan sampel juga berperan penting, karena pengambilan sampel dari lokasi atau subjek yang berbeda dapat menghasilkan variasi kadar IL-1 β yang diukur, meskipun prosedur yang digunakan sama⁶⁵. Selain itu, interferensi molekul lain dalam sampel jaringan dapat mengganggu reaksi enzimatik pada ELISA, mengarah pada underestimasi atau overestimasi kadar IL-1 β ⁶⁶. Selain faktor teknis, kompleksitas respons inflamasi dalam tubuh juga dapat memengaruhi hasil yang tidak sesuai dengan hipotesis. Respons tubuh terhadap luka atau perlakuan tertentu dapat bervariasi, yang berdampak pada kadar IL-1 β yang dihasilkan⁶⁷.

Pada kelompok perlakuan Gel EJP pada hari ke-6 setelah luka eksisi justru menghasilkan kadar IL-1 β yang lebih tinggi dibandingkan dengan Kelompok Sehat. Hal ini dapat terjadi karena kelompok sehat tidak mengalami perlukaan sehingga kadar IL-1 β relatif stabil, sedangkan kelompok EJP mengalami luka eksisi yang memicu respons inflamasi serta kemungkinan stimulasi tambahan dari senyawa bioaktif jintan putih, sehingga menghasilkan

peningkatan ekspresi IL-1 β . Penemuan ini juga dapat terjadi karena beberapa faktor yang terkait dengan dinamika waktu ekspresi IL-1 β dan respons inflamasi yang dipicu oleh perlakuan dengan Gel EJP. Ekspresi IL-1 β menunjukkan peningkatan signifikan pada hari pertama dan kedua setelah cedera, dengan puncaknya tercatat pada 24-48 jam pertama⁶⁸. Jika transisi dari sel makrofag M1 (proinflamasi) ke M2 (anti-inflamasi) yang berperan dalam penyembuhan luka belum sepenuhnya terjadi, maka IL-1 β bisa tetap tinggi. Tingginya IL-1 β pada hari ke-6 dapat mencerminkan peran berkelanjutan dari IL-1 β dalam mendukung pembentukan pembuluh darah baru yang esensial bagi kelanjutan proses penyembuhan.⁶⁹

Kadar IL-1 β pada kelompok gel EJP 10% lebih rendah dibandingkan Kontrol Negatif, tetapi kelompok gel EJP 20% menunjukkan kadar IL-1 β tertinggi di antara seluruh kelompok perlakuan. Perbedaan kadar IL-1 β pada Kelompok Kontrol Negatif tidak signifikan secara statistik dibandingkan kelompok gel EJP 10% maupun kelompok gel EJP 20%. Hal ini mungkin terjadi karena tubuh masih berada dalam fase inflamasi awal pada hari ke-6, sehingga peningkatan konsentrasi komponen aktif EJP memicu respon imun lebih intensif. Hal ini mirip dengan temuan yang dijelaskan oleh Grellner et al. di mana ekspresi IL-1 β dan sitokin inflamasi lainnya meningkat segera setelah cedera dan bertahan

untuk beberapa waktu, terutama pada lapisan epidermis dan jaringan granulasional⁷⁰.

Kadar IL-1 β pada kelompok gel EJP yang tidak berbeda signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif juga dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antar lain adalah variabilitas biologis antar hewan uji, di mana setiap tikus memiliki respon imun yang berbeda terhadap luka dan perlakuan. Faktor lain yang mempengaruhi adalah adanya efek iritatif ringan dari aplikasi topikal yang tidak dapat diabaikan, karena hal tersebut dapat memicu produksi sitokin proinflamasi, kemudian faktor teknis penelitian, seperti teknik aplikasi topikal yang digunakan juga dapat mempengaruhi distribusi senyawa aktif pada jaringan luka. Distribusi gel yang tidak merata dapat mempengaruhi bioavailabilitas senyawa aktif dan menghalangi tercapainya efek terapeutik yang optimal.

Kebiasaan tikus menggaruk atau menggigit luka juga dapat menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi tinginya kadar IL-1 β pada kelompok perlakuan gel EJP, sehingga dapat mengganggu proses penyembuhan dan menyebabkan kerusakan lebih lanjut pada jaringan yang telah terpapar terapi.⁷¹ Hal ini akan semakin mengurangi efektivitas pengobatan, mengarah pada hasil yang tidak signifikan pada kadar IL-1 β antara EJP dan kontrol negatif, kemudian adapun faktor dari senyawa dalam EJP juga bersifat bukan

hanya antiinflamasi saja melainkan juga bersifat imunomodulator, artinya EJP dapat menurunkan inflamasi berlebih, tetapi juga tetap mendukung respon imun normal untuk mempercepat penyembuhan, sehingga kadar IL-1 β tetap dipertahankan dalam batas fisiologis.

Peningkatan kadar IL-1 β hari ke 6 pada kelompok gel EJP 20% di penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian gel EJP 20% justru meningkatkan kadar IL-1 β dibandingkan kelompok lainnya, yang mana hal tersebut berbeda dari hipotesis awal bahwa EJP bersifat antiinflamasi dan menurunkan IL-1 β . Meski demikian, peningkatan IL-1 β pada awal penyembuhan luka bukan merupakan hasil yang merugikan, karena IL-1 β tetap berperan penting dalam mobilisasi neutrofil, aktivasi makrofag M1, dan transisi ke fase proliferasi. Tingginya IL-1 β dapat menjadi indikator aktivasi imun yang diperlukan agar proses regeneratif jaringan berlangsung optimal. Hal ini sejalan dengan pendapat Eming et al. bahwa respon inflamasi akut yang terkontrol pada fase awal merupakan syarat penting untuk mencegah luka kronis dan mendukung penyembuhan yang efisien⁷⁶. Sitokin ini berperan penting dalam memobilisasi neutrofil, aktivasi makrofag M1, serta memfasilitasi transisi ke fase proliferasi^{72,73}.

Lebih tingginya kadar IL-1 β pada kelompok perlakuan dapat dijelaskan melalui potensi senyawa aktif dalam jintan putih seperti cuminaldehyde dan flavonoid yang memiliki efek imunostimulan dan meningkatkan respon inflamasi akut secara terkontrol⁵. Aktivasi

Toll-like receptors (TLRs) oleh senyawa bioaktif dapat memperkuat transkripsi gen pro-IL-1 β melalui jalur NF- κ B, dan inflammasome NLRP3 akan memproses pro-IL-1 β menjadi bentuk aktif, yang kemudian memicu rekrutmen sel imun ke lokasi luka⁷⁴. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa ekstrak tanaman dengan kandungan flavonoid tinggi dapat meningkatkan aktivitas sel imun selama fase inflamasi awal untuk mempercepat eliminasi debris dan patogen^{58,75}.

Adanya penurunan IL-1 β tidak dapat diartikan selalu berbanding lurus dengan percepatan penyembuhan, mengingat respon inflamasi akut yang cukup justru diperlukan untuk menginisiasi proses regeneratif jaringan secara optimal. Oleh karena itu, tingginya kadar IL-1 β pada kelompok gel EJP tidak dapat langsung diinterpretasikan sebagai efek negatif, melainkan sebagai indikator aktivasi imun awal yang diperlukan dalam konteks penyembuhan luka secara fisiologis. Temuan ini sejalan dengan pemahaman dari penelitian Eming et al bahwa respon inflamasi akut yang terkontrol pada fase awal luka merupakan syarat penting untuk penyembuhan yang efisien dan terhindar dari luka kronis⁷⁶.

5.2.4. Pengaruh Pemberian EJP terhadap Kadar VEGF

VEGF merupakan faktor kunci dalam angiogenesis, yaitu pembentukan pembuluh darah baru yang sangat dibutuhkan untuk

penyediaan oksigen dan nutrisi selama proses penyembuhan. Kenaikan kadar VEGF yang tepat dapat mempercepat proses penutupan luka dengan memfasilitasi pembentukan jaringan baru dan vaskularisasi⁶³.

Dalam penelitian ini, kelompok perlakuan Gel EJP 20% menunjukkan nilai kadar VEGF tertinggi kedua setelah kelompok sehat dibanding kelompok lain, diikuti oleh EJP 10%, kontrol positif (povidone iodine), dan kontrol negatif. Hal ini mengindikasikan bahwa EJP mampu merangsang proses angiogenesis yang esensial untuk fase proliferasi penyembuhan luka⁷⁷.

Peningkatan kadar VEGF pada kelompok perlakuan dapat dikaitkan dengan kandungan senyawa aktif dalam jintan putih, seperti flavonoid dan cuminaldehyde, yang memiliki efek antioksidan dan sitoprotektif terhadap sel endotel vaskular⁷. Aktivitas antioksidan ini dapat menstimulasi jalur ekspresi HIF-1 α (*Hypoxia-Inducible Factor 1 alpha*), yang merupakan pengatur utama transkripsi gen VEGF dalam kondisi hipoksia lokal pada jaringan luka⁷⁷. Dengan meningkatnya ekspresi HIF-1 α , produksi VEGF juga akan meningkat, sehingga mendukung pembentukan vaskularisasi baru untuk memasok oksigen dan nutrisi pada jaringan yang sedang mengalami regenerasi.

Melalui metode uji statistik yaitu dengan uji post hoc *Tukey HSD*, menunjukkan bahwa pemberian gel ekstrak jintan putih

memberikan efek positif terhadap peningkatan kadar VEGF, terutama bila dibandingkan dengan Kontrol Negatif, dan memberikan dasar ilmiah untuk potensi aplikasinya sebagai terapi topikal pada luka eksisi.

Efek tingginya kadar VEGF ini tampaknya menunjukkan adanya korelasi positif dengan kecepatan penyembuhan luka secara makroskopis, di mana kelompok EJP 20% mengalami penurunan diameter luka tercepat. Temuan ini diperkuat oleh penelitian lain yang melaporkan bahwa sediaan topikal berbahan dasar tanaman dengan kandungan polifenol dan terpenoid dapat meningkatkan ekspresi VEGF secara signifikan, mempercepat pembentukan jaringan granulasi, dan memperbaiki re-epitelisasi⁷⁸. Oleh karena itu, tingginya kadar VEGF pada kelompok gel EJP dapat diinterpretasikan sebagai indikator peningkatan aktivitas angiogenik dan regeneratif pada luka eksisi.

Dibandingkan dengan kontrol positif (*povidone iodine*), kadar VEGF pada kelompok EJP adalah lebih tinggi, yang menunjukkan bahwa efek EJP tidak hanya bersifat antiseptik atau antiinflamasi, tetapi juga memiliki efek promotif terhadap proses regenerasi jaringan. Hal ini menjadikan EJP sebagai kandidat terapi topikal yang potensial untuk mendukung proses penyembuhan luka melalui dual mekanisme, yaitu stimulasi respon inflamasi awal serta peningkatan angiogenesis yang efektif. Penggunaan gel EJP dalam

konsentrasi 20% menunjukkan hasil yang lebih optimal dibandingkan 10% yang mengindikasikan kemungkinan adanya hubungan dosis-respons terhadap ekspresi VEGF dan kualitas penyembuhan luka.

Kadar VEGF tertinggi ditunjukkan pada Kelompok Sehat, di mana peningkatan kadar VEGF ini dapat dipengaruhi oleh aktivitas hewan. Peningkatan kadar VEGF pada kelompok sehat dapat dilihat sebagai bagian dari proses fisiologis alami tubuh yang memastikan suplai darah dan oksigen yang cukup untuk jaringan. Hal ini merupakan mekanisme tubuh yang berjalan dalam kondisi optimal untuk mendukung angiogenesis, perbaikan jaringan, dan homeostasis vaskular, bahkan tanpa adanya patologi atau peradangan yang serius.⁷⁹

5.2.5. Pengaruh Pemberian EJP terhadap Makroskopis Luka

Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis dalam penelitian ini, kelompok perlakuan Gel EJP 20% menunjukkan proses penyembuhan luka tercepat, ditandai dengan penurunan diameter luka yang signifikan, pembentukan jaringan granulasi yang baik, dan epitelisasi lebih awal dibandingkan kelompok lainnya. Kecepatan penyembuhan ini sejalan dengan kadar VEGF yang tertinggi pada kelompok tersebut, mendukung peran penting angiogenesis dalam distribusi oksigen dan nutrisi untuk regenerasi jaringan⁸⁰.

Tampilan luka kelompok Gel EJP 10% hampir serupa dengan kelompok Kontrol Positif yang diberi povidone iodine yang menunjukkan percepatan penyembuhan luka, meskipun tidak secepat kelompok perlakuan Gel EJP 20%. Hal ini menunjukkan bahwa efek penyembuhan luka bersifat tergantung dosis, di mana konsentrasi senyawa aktif yang lebih tinggi menunjukkan hasil makroskopis yang lebih optimal dalam memodulasi respon imun awal dan merangsang proliferasi sel fibroblas serta sel endotel vaskular⁷. Studi sebelumnya juga melaporkan bahwa penggunaan ekstrak tanaman yang kaya akan flavonoid dapat meningkatkan aktivitas mitogenik fibroblas serta mempercepat sintesis kolagen dan reepitelisasi kulit⁵⁸. Oleh karena itu, hasil pada kelompok Gel EJP 10% dan kelompok Gel EJP 20% menegaskan bahwa EJP memiliki potensi sebagai agen penyembuh luka berbasis bahan alam.

Sementara itu, kelompok Kontrol Negatif yang hanya diberi gel basis mengalami penyembuhan paling lambat, dengan luka yang masih tampak besar, belum terjadi epitelisasi penuh, jaringan granulasi belum terbentuk sempurna dan luka masih tampak basah. Gel basis tidak memiliki kandungan senyawa aktif yang mampu memodulasi respon inflamasi maupun mempercepat proliferasi sel. Temuan ini mendukung pemahaman bahwa bahan pembawa (*vehicle*) saja tidak cukup untuk mempercepat penyembuhan luka, dan dibutuhkan komponen bioaktif yang bekerja sinergis dalam

menginisiasi dan mempertahankan proses penyembuhan yang efisien.

Secara umum, perbedaan makroskopis ini memperkuat dugaan bahwa pemberian gel ekstrak jintan putih, khususnya pada konsentrasi 20%, berkontribusi dalam mempercepat proses penyembuhan luka. Efek ini diduga terkait dengan aktivitas senyawa bioaktif yang bersifat antiinflamasi, antioksidan, dan mendukung regenerasi jaringan, seperti flavonoid, terpenoid, dan fenolik yang telah teridentifikasi dalam hasil uji fitokimia sebelumnya

Mekanisme pengaruh gel ekstrak jintan putih terhadap penyembuhan luka tampaknya bersifat multifaset, melibatkan aktivasi respon imun awal serta stimulasi fase proliferasi melalui peningkatan angiogenesis. Ini menempatkan EJP sebagai agen topikal yang tidak hanya berperan sebagai antiinfeksi, tetapi juga memiliki efek imunomodulator dan pro-regeneratif. Efektivitas tersebut juga tampak *dose-dependent*, di mana konsentrasi 20% menunjukkan hasil paling optimal. Untuk memperkuat pemahaman terhadap mekanisme ini, penelitian lebih lanjut dapat mencakup pemeriksaan marker lain seperti TNF- α , IL-10, TGF- β 1, serta ekspresi gen HIF-1 α dan CD31 pada jaringan luka⁷.

5.2.6. Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki keterbatasan terkait keragaman biologis alami antar hewan coba, sehingga dapat memengaruhi respon inflamasi meskipun perlakuan yang diberikan seragam. Walaupun hasil analisis statistik menunjukkan data berdistribusi normal dan varians antar kelompok homogen, tetap dapat dimungkinkan adanya variasi respons individu yang dipengaruhi oleh faktor luar seperti kondisi lingkungan, status fisiologis, atau perbedaan asupan nutrisi selama masa perlakuan.

Penelitian ini menggunakan jaringan sebagai sampel penelitian, dimana pemeriksaan ELISA menggunakan sampel jaringan memiliki keterbatasan, yaitu untuk analisis jaringan, sampel harus diproses lebih lanjut melalui serangkaian langkah seperti homogenisasi, ekstraksi, dan preparasi lainnya. Proses ini dapat menambah variabilitas dan waktu, sehingga membuat pengolahan sampel menjadi lebih kompleks. Selain itu, kadar molekul dalam jaringan dapat bervariasi antar individu dan bahkan antar lokasi dalam jaringan yang sama, yang dapat memengaruhi konsistensi dan interpretasi hasil. Jaringan juga mengandung banyak komponen yang dapat mengganggu hasil pengujian, seperti protein struktural, lipid, dan enzim. Komponen-komponen ini berpotensi menyebabkan interferensi dengan reaksi antigen-antibodi, sehingga dapat memengaruhi akurasi dan sensitivitas analisis.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu dipertimbangkan untuk pengembangan lebih lanjut. Salah satunya adalah waktu pemeriksaan yang hanya dilakukan pada hari ke-6 setelah perlakuan, yang sebaiknya diperpanjang yaitu hari ke-3, 7, dan 14 untuk memperoleh data yang lebih komprehensif mengenai proses penyembuhan jaringan. Terkait dengan konsentrasi gel ekstrak jintan putih, penelitian ini hanya menguji konsentrasi 10% dan 20%, yang mungkin belum optimal. Oleh karena itu, penelitian selanjutnya disarankan untuk menguji konsentrasi yang lebih tinggi agar dapat melihat potensi efek yang lebih kuat. Penelitian ini belum mengevaluasi secara mendalam seberapa cepat dan efisien gel EJP diserap ke dalam jaringan kulit dan seberapa banyak senyawa aktif dalam gel tersebut mencapai target pada lokasi luka. Selain itu, faktor-faktor yang mempengaruhi absorpsi gel, seperti ketebalan dan kondisi kulit tikus, belum diperhitungkan secara rinci, yang dapat mempengaruhi hasil penelitian.

Dalam hal uji fitokimia ekstrak jintan putih, penelitian ini hanya memfokuskan pada identifikasi kandungan flavonoid secara kuantitatif tanpa menguji jenis spesifik flavonoid seperti quercetin dan apigenin secara kuantitatif. Begitu pula dengan komponen terpenoid seperti cuminaldehid, yang belum diuji secara kuantitatif dalam penelitian ini. Oleh karena itu, disarankan agar penelitian mendatang melakukan uji fitokimia yang lebih terperinci untuk

mengidentifikasi flavonoid spesifik seperti quercetin dan terpenoid seperti cuminaldehyde dalam ekstrak jintan putih.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Pemberian gel EJP tidak menunjukkan adanya pengaruh signifikan terhadap kadar IL-1 β , namun pemberian gel EJP menunjukkan peningkatan signifikan terhadap kadar VEGF dibandingkan kelompok kontrol negatif pada jaringan kulit tikus Wistar jantan model luka eksisi.
2. Terdapat perbedaan kadar IL-1 β dan kadar VEGF pada jaringan kulit tikus Wistar jantan yang signifikan antara kelompok tikus sehat dengan kelompok tikus kontrol negatif model luka eksisi.
3. Terdapat perbedaan kadar IL-1 β dan kadar VEGF pada jaringan kulit tikus Wistar jantan model eksisi yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan.
4. Terdapat perbedaan kadar IL-1 β dan kadar VEGF pada jaringan kulit tikus Wistar jantan model eksisi antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan.
5. Terdapat perbedaan kadar IL-1 β dan kadar VEGF pada jaringan kulit tikus Wistar jantan model eksisi antar kelompok perlakuan.

6.2 Saran

1. Melakukan pemeriksaan pada titik waktu yang lebih variatif, seperti hari ke-3, 7, dan 14, untuk memperoleh data yang lebih mendalam mengenai dinamika proses penyembuhan jaringan.
2. Melakukan analisis fitokimia yang lebih mendalam untuk mengidentifikasi komponen flavonoid spesifik, seperti quercetin dan apigenin, serta mengukur kadar terpenoid seperti cuminaldehyde dalam ekstrak jintan putih.
3. Menggunakan konsentrasi yang lebih tinggi pada gel ekstrak jintan putih dalam eksperimen selanjutnya untuk mengevaluasi potensi efek yang lebih besar dan optimal.
4. Memperluas cakupan pemeriksaan dengan memasukkan marker inflamasi lainnya seperti IL-6, serta marker penyembuhan luka dan indikator antioksidan seperti HIF-1 α , MMPs, GPX, dan MDA untuk memperoleh hasil yang lebih komprehensif terkait pengaruh perlakuan terhadap peradangan dan proses penyembuhan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Choudhary V, Choudhary M, Bollag WB. Exploring Skin Wound Healing Models and the Impact of Natural Lipids on the Healing Process. Vol. 25, International Journal of Molecular Sciences. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024.
2. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. Vol. 37, The Journal of International Medical Research. 2009.
3. Raziyeva K, Kim Y, Zharkinbekov Z, Kassymbek K, Jimi S, Saparov A. Immunology of acute and chronic wound healing. Vol. 11, Biomolecules. MDPI AG; 2021.
4. Farris PK. Cosmeceuticals and Cosmetic Practice. 2014.
5. Singh N, Yadav SS, Kumar S, Narashiman B. A review on traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and clinical research of dietary spice *Cuminum cyminum* L. Vol. 35, Phytotherapy Research. John Wiley and Sons Ltd; 2021. p. 5007–30.
6. Srinivasan K. Cumin (*Cuminum cyminum*) and black cumin (*Nigella sativa*) seeds: Traditional uses, chemical constituents, and nutraceutical effects. Food Quality and Safety. 2018 Mar 1;2(1):1–16.
7. Ahmed KAA, Jabbar AAJ, Galali Y, M. Al-Qaaneh A, Akçakavak G, Salehen NA, et al. Cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds accelerates wound healing in rats: Possible molecular mechanisms. Skin Research and Technology. 2024 May 1;30(5).
8. 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.
9. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas). Laporan Riskesdas 2018 Nasional.pdf [Internet]. Lembaga Penerbit Balitbangkes. 2018. p. hal 156. Available from: [https://repository.badankebijakan.kemkes.go.id/id/eprint/3514/1/Laporan Riskesdas 2018 Nasional.pdf](https://repository.badankebijakan.kemkes.go.id/id/eprint/3514/1/Laporan_Riskesdas_2018_Nasional.pdf)
10. Saqib U, Sarkar S, Suk K, Mohammad O, Baig MS, Savai R. Phytochemicals as modulators of M1-M2 macrophages in inflammation. Oncotarget. 2018;9(25):17937–50.

11. Zhong R, Miao L, Zhang H, Tan L, Zhao Y, Tu Y, et al. Anti-inflammatory activity of flavonols via inhibiting MAPK and NF- κ B signaling pathways in RAW264.7 macrophages. *Curr Res Food Sci* [Internet]. 2022;5(July):1176–84. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.07.007>
12. Bhat SP, Rizvi W, Kumar A. Effect of cuminum cyminum L. Seed extracts on pain and inflammation. *Journal of Natural Remedies*. 2014 Jul 1;14(2):186–92.
13. Zhao L, Chen J, Bai B, Song G, Zhang J, Yu H, et al. Topical drug delivery strategies for enhancing drug effectiveness by skin barriers, drug delivery systems and individualized dosing. Vol. 14, *Frontiers in Pharmacology*. Frontiers Media SA; 2023.
14. Bisht P, Badola A. Gel As A Topical Drug Delivery System: A Review [Internet]. Vol. 6. 2019. Available from: www.jetir.org
15. Shamsiev A, Park J, Olawuyi IF, Odey G, Lee W. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polyphenols and antioxidants from cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Korean Journal of Food Preservation*. 2021;28(4):510–21.
16. Wardhani IY, Ramadani AH, Famelia V, Widyaningrum F. The Effect of Extraction Method on Total Flavonoid Content of *Ageratum conyzoides* Ethanol Extract. 2023.
17. Maghfirah AI, Esa T, Bahrin U. Memahami Interleukin-1 Beta (IL-1 β) Sebagai Sitokin Pro Inflamasi. *Jurnal Penelitian Kedokteran Dan Kesehatan*. 2023;5 (3).
18. Fields JK, Günther S, Sundberg EJ. Structural basis of IL-1 family cytokine signaling. Vol. 10, *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A.; 2019.
19. Ren K, Torres R. Role of interleukin-1 β during pain and inflammation. Vol. 60, *Brain Research Reviews*. 2009. p. 57–64.
20. Potere N, Giuseppe M, Buono D, Caricchio R, Cremer PC, Vecchi A, et al. Interleukin-1 and the NLRP3 inflammasome in COVID-19: Pathogenetic and therapeutic implications. 2022; Available from: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>
21. Bao P, Kodra A, Tomic-Canic M, Golinko MS, Ehrlich HP, Brem H. The Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Wound Healing. Vol. 153, *Journal of Surgical Research*. 2009. p. 347–58.

22. Linggodigdo M, Hellyanti T, Kusmardi. The Role of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in the Pathogenesis of the Placenta Accreta Spectrum. *Majalah Patologi Indonesia*. 2022 Sep 12;31(3).
23. Hovis G, Chandra N, Kejriwal N, Hsieh KJY, Chu A, Yang I, et al. Understanding the Role of Endothelial Cells in Glioblastoma: Mechanisms and Novel Treatments. Vol. 25, *International Journal of Molecular Sciences*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024.
24. Arief H, Aris M, Bagian W, Bedah I, Kedokteran F, Wijaya U, et al. Peranan Stres Oksidatif Pada Proses Penyembuhan Luka. Vol. 5, (Online) *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*.
25. Chung JY, Song Y, Wang Y, Magness RR, Zheng J. Differential Expression of VEGF, EG-VEGF, and VEGF Receptors in Human Placentas from Normal and Pre-eclamptic Pregnancies. 2012.
26. Masson-Meyers DS, Andrade TAM, Caetano GF, Guimaraes FR, Leite MN, Leite SN, et al. Experimental models and methods for cutaneous wound healing assessment. Vol. 101, *International Journal of Experimental Pathology*. Blackwell Publishing Ltd; 2020. p. 21–37.
27. Denizot Y, De Armas R, Caire F, Moreau JJ, Pommepuy I, Truffinet V, et al. The quantitative analysis of bFGF and VEGF by ELISA in human meningiomas. *Mediators Inflamm*. 2006;2006.
28. Agarwal U, Pathak DP, Kapoor G, Bhutani R, Roper R, Gupta V, et al. Review on Cuminum Cyminum-Nature's Magical Seeds. Available online www.jocpr.com *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* [Internet]. 2017;(9):180–7. Available from: www.jocpr.com
29. Rafique S, Hassan SM, Sharif S. A review on potential antioxidant effects of Cumin (*Cuminum cyminum*), phytochemical Profile and its uses [Internet]. 2020. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/351282362>
30. Tabarsa M, You S, Yelithao K, Palanisamy S, Prabhu NM, Nan M. Isolation, structural elucidation and immuno-stimulatory properties of polysaccharides from *Cuminum cyminum*. *Carbohydr Polym*. 2020 Feb;230:115636.
31. Zhang X, Tang Y, Lu G, Gu J. Pharmacological Activity of Flavonoid Quercetin and Its Therapeutic Potential in Testicular Injury. *Nutrients*. 2023;15(9):1–21.
32. Ebada ME. Cuminaldehyde: A Potential Drug Candidate. *Journal of pharmacology & clinical research*. 2017 Mar 8;2(2).

33. Wang Y, Tao B, Wan Y, Sun Y, Wang L, Sun J, et al. Drug delivery based pharmacological enhancement and current insights of quercetin with therapeutic potential against oral diseases. *Biomedicine and Pharmacotherapy* [Internet]. 2020;128(April):110372. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110372>
34. Colombo GL, Di Matteo S, Bruno G, Girolomoni G, Vena GA. Calcipotriol and betamethasone dipropionate in the treatment of mild-to-moderate psoriasis: A cost-effectiveness analysis of the ointment versus gel formulation. Vol. 4, *ClinicoEconomics and Outcomes Research*. Dove Medical Press Ltd; 2012. p. 261–8.
35. Verma A, Singh S, Kaur R, Jain UK. Topical Gels as Drug Delivery Systems: A Review. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2013;23(2).
36. Wati DP, Ilyas S, Yurnadi. *Prinsip Dasar Tikus sebagai Model Penelitian*. 2024.
37. Juhaimi AL, Y.F, K. Ghafoor. Extraction optimization and in vitro antioxidant properties of phenolic compounds from Cumin (*Cuminum cyminum* l.) seed. *Int Food Res J*. 2013;
38. Primadina N, Basori A, Perdanausuma DS. *Proses Penyembuhan Luka Ditinjau dari Aspek Mekanisme Seluler dan Molekuler*. 2019;3.
39. Wang X, Balaji S, Steen EH, Li H, Rae MM, Blum AJ, et al. T Lymphocytes Attenuate Dermal Scarring by Regulating Inflammation, Neovascularization, and Extracellular Matrix Remodeling. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2019 Nov 1;8(11):527–37.
40. Rosyid F. Wounds: physiological mechanisms and factors affecting healing. *Int J Res Med Sci*. 2022 Mar 28;10(4):1001.
41. Khalid KA, Nawi AFM, Zulkifli N, Barkat MA, Hadi H. Aging and Wound Healing of the Skin: A Review of Clinical and Pathophysiological Hallmarks. *Life*. 2022;12(12):1–12.
42. Strudwick X, Powell B, Cowin A. Role of sex hormones in acute and chronic wound healing. *Primary Intention*. 2006;14(1):35–8.
43. Gouin JP, Kiecolt-Glaser JK. The Impact of Psychological Stress on Wound Healing: Methods and Mechanisms. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2011;31(1):81–93.
44. Dasari N, Jiang A, Skochdopole A, Chung J, Reece EM, Vorstenbosch J, et al. Updates in Diabetic Wound Healing, Inflammation, and Scarring. *Semin Plast Surg*. 2021;35(3):153–8.

45. Kenny MG, Agrawal S, Crigler C, Fitzgibbons RJ. A molecular perspective of obesity-mediated incisional hernia. *Health Sciences Review* [Internet]. 2023;6(November 2022):100080. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.hsr.2023.100080>
46. Yu H, Wang Y, Wang D, Yi Y, Liu Z, Wu M, et al. Landscape of the epigenetic regulation in wound healing. *Front Physiol.* 2022;13(August):1–19.
47. Rajavel V, Muthuraman A, Raja Kumar J, Varatharajan R. Preparation and Evaluation of Povidone Iodine based Microsponge for Wound Healing Activity in Rats [Internet]. 2020. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/340352047>
48. Irmawatini N. Bahan ajar kesehatan lingkungan: metodologi penelitian. . 2017. 113–113 p.
49. Lala MDA, Sari DR. Perbandingan Gambaran Histologis Lapisan Piramidalis Area Ca1 Hipokampus Mus Musculus yang Dipapar Radiasi Gelombang Elektromagnetik Telepon Seluler 3G dan 4G [Internet]. 2023. Available from: <http://jurnal.globalhealthsciencegroup.com/index.php/JPPP>
50. Thomas NA, Tungadi R, Hiola F, S. Latif M. Pengaruh Konsentrasi Carbopol 940 Sebagai Gelling Agent Terhadap Stabilitas Fisik Sediaan Gel Lidah Buaya (Aloe Vera). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education.* 2023 Jun 24;3(2).
51. Krissanti I, Hanifa R, Dwiwina RG. Efektivitas dan Pengaruh Kombinasi Anestesi Ketamine-Xylazine pada Tikus (*Rattus norvegicus*). *Gunung Djati Conference Series* [Internet]. 2023;18. Available from: <https://conference.uinsgd.ac.id/index.php/Telp/Fax>
52. Nakra S, Tripathy S, Srivastav PP. Drying as a preservation strategy for medicinal plants: Physicochemical and functional outcomes for food and human health. *Phytomedicine Plus* [Internet]. 2025 May 1 [cited 2025 Aug 2];5(2):100762. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2667031325000351>
53. Ansari FA, Perazzolli M, Husain FM, Khan AS, Ahmed NZ, Meena RP. Novel decontamination approaches for stability and shelf-life improvement of herbal drugs: A concise review. *The Microbe* [Internet]. 2024 Jun 1 [cited 2025 Aug 2];3:100070. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2950194624000372>
54. Tomar R, Sikarwar S. The Science of Ash Values in Pharmacognosy: Evaluating the Efficacy of Medicinal Plants Corresponding Author-*Ruchi

- Tomar. PEXACY International Journal of Pharmaceutical Science. 2023 Nov;2(2):11.
55. Ramya S, Loganathan T, Chandran M, Priyanka R, Kavipriya K, Grace Lydial Pushpalatha G, et al. Phytochemical Screening, GCMS, FTIR profile of Bioactive Natural Products in the methanolic extracts of Cuminum cyminum seeds and oil. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2022 Apr 15;12(2-S):110–8.
 56. Landge MM. Review of selected herbal phytoconstituents for wound healing treatment. *J Pharmacogn Phytochem*. 2024 Jan 1;13(3):208–15.
 57. Zheng Q, Wang T, Wang S, Chen Z, Jia X, Yang H, et al. The anti-inflammatory effects of saponins from natural herbs. *Pharmacol Ther*. 2025 May;269:108827.
 58. Zulkefli N, Che Zahari CNM, Sayuti NH, Kamarudin AA, Saad N, Hamezah HS, et al. Flavonoids as Potential Wound-Healing Molecules: Emphasis on Pathways Perspective. Vol. 24, *International Journal of Molecular Sciences*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023.
 59. Samavati SS, Kashanian S, Derakhshankhah H, Rabiei M, Sajadimajd S, Fakhri S, et al. Accelerated wound healing through tannin-rich Jaft extract, concentration-dependent efficacy and mechanistic insights from *Quercus brantii* ointment formulations. *Sci Rep*. 2025 Aug 8;15(1):29004.
 60. Alharshani EM, El-Hawary SS, Abdelkader EM, Ismail SA, Abdelhameed MF, Kirolos FN, et al. Exploring the impact of *Rubus ulmifolius* leaf cream on wound healing in an *in vivo* model: VEGF, PDGF, and cytokine dynamics. *Burns*. 2025 Nov;51(8):107634.
 61. Iosageanu A, Mihai E, Seciu-Grama AM, Utoiu E, Gaspar-Pintiliescu A, Gatea F, et al. In Vitro Wound-Healing Potential of Phenolic and Polysaccharide Extracts of *Aloe vera* Gel. *J Funct Biomater*. 2024 Sep 13;15(9):266.
 62. Landén NX, Li D, Stähle M. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. Vol. 73, *Cellular and Molecular Life Sciences*. Birkhauser Verlag AG; 2016. p. 3861–85.
 63. Favier AL, Nikovics K. Molecular and Cellular Mechanisms of Inflammation and Tissue Regeneration. Vol. 11, *Biomedicines*. MDPI; 2023.
 64. Bigliardi PL, Alsagoff SAL, El-Kafrawi HY, Pyon JK, Wa CTC, Villa MA. Povidone iodine in wound healing: A review of current concepts and

- practices. *International Journal of Surgery* [Internet]. 2017 Aug 1 [cited 2025 Aug 2];44:260–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1743919117305368?via%3Dihub>
65. Matson RS. Interference in ELISA. In 2023. p. 91–9.
 66. Anagnostou VK, Welsh AW, Giltneane JM, Siddiqui S, Lioeaga C, Gustavson M, et al. Analytic variability in immunohistochemistry biomarker studies. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*. 2010 Apr;19(4):982–91.
 67. Soliman AM, Barreda DR. Acute Inflammation in Tissue Healing. Vol. 24, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI; 2023.
 68. Alzoghaibi MA, Al-Oraini AI, Al-Sagheir AI, Zubaidi AM. Temporal expression of IL-1 β and IL-10 in rat skin, muscle, small bowel, and colon wounds: a correlative study. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2014 May 1;25(2):205–10.
 69. Yao M, Cui B, Zhang W, Ma W, Zhao G, Xing L. Exosomal miR-21 secreted by IL-1 β -primed-mesenchymal stem cells induces macrophage M2 polarization and ameliorates sepsis. *Life Sci*. 2021 Jan 1;264.
 70. Grellner W. Time-dependent immunohistochemical detection of proinflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF- α) in human skin wounds. *Forensic Sci Int*. 2002 Dec;130(2–3):90–6.
 71. Papanikolaou M, Paul J, Nattkemper LA, Kirsner RS, Yosipovitch G. Prevalence and Mechanisms of Itch in Chronic Wounds: A Narrative Review. Vol. 14, *Journal of Clinical Medicine*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2025.
 72. Mahmoud NN, Hamad K, Al Shibitini A, Juma S, Sharifi S, Gould L, et al. Investigating Inflammatory Markers in Wound Healing: Understanding Implications and Identifying Artifacts. *ACS Pharmacol Transl Sci*. 2024 Jan 12;7(1):18–27.
 73. Li M, Hou Q, Zhong L, Zhao Y, Fu X. Macrophage Related Chronic Inflammation in Non-Healing Wounds. Vol. 12, *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A.; 2021.
 74. Chen Y, Ye X, Escames G, Lei W, Zhang X, Li M, et al. The NLRP3 inflammasome: contributions to inflammation-related diseases. Vol. 28, *Cellular and Molecular Biology Letters*. BioMed Central Ltd; 2023.
 75. Carvalho MTB, Araújo-Filho HG, Barreto AS, Quintans-Júnior LJ, Quintans JSS, Barreto RSS. Wound healing properties of flavonoids: A

systematic review highlighting the mechanisms of action. *Phytomedicine* [Internet]. 2021 Sep 1 [cited 2025 Aug 2];90:153636. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0944711321001793>

76. Eming SA, Martin P, Tomic-Canic M. Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation. *Sci Transl Med*. 2014 Dec 3;6(265).
77. Shi Z, Yao C, Shui Y, Li S, Yan H. Research progress on the mechanism of angiogenesis in wound repair and regeneration. Vol. 14, *Frontiers in Physiology*. Frontiers Media SA; 2023.
78. Ezzat MI, Abdelhafez MM, Al-Mokaddem AK, Ezzat SM. Targeting TGF- β /VEGF/NF- κ B inflammatory pathway using the Polyphenols of *Echinacea purpurea* (L.) Moench to enhance wound healing in a rat model. *Inflammopharmacology*. 2025 Apr 1;33(4):2151–64.
79. Lee C, Kim MJ, Kumar A, Lee HW, Yang Y, Kim Y. Vascular endothelial growth factor signaling in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic perspectives. *Signal Transduct Target Ther*. 2025 May 19;10(1):170.
80. Johnson KE, Wilgus TA. Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis in the Regulation of Cutaneous Wound Repair. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2014 Oct;3(10):647–61.

