

**PENGARUH PEMBERIAN GEL EKSTRAK JINTAN  
PUTIH TERHADAP KADAR TNF- $\alpha$  DAN KADAR SOD**

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

**TESIS**

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



**Magister Ilmu Biomedik**

**Gabriela Clarisa Wibowo**

**MBK. 2423010446**

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG**

**SEMARANG**

**2025**

**HALAMAN PENGESAHAN**  
**TESIS**  
**PENGARUH PEMBERIAN GEL EKSTRAK JINTAN PUTIH**  
**TERHADAP KADAR TNF- $\alpha$  DAN KADAR SOD**  
**(Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur Wistar Model Luka Eksisi)**

disusun oleh:

Gabriela Clarisa Wibowo  
MBK. 2423010446

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 Biomedik  
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung

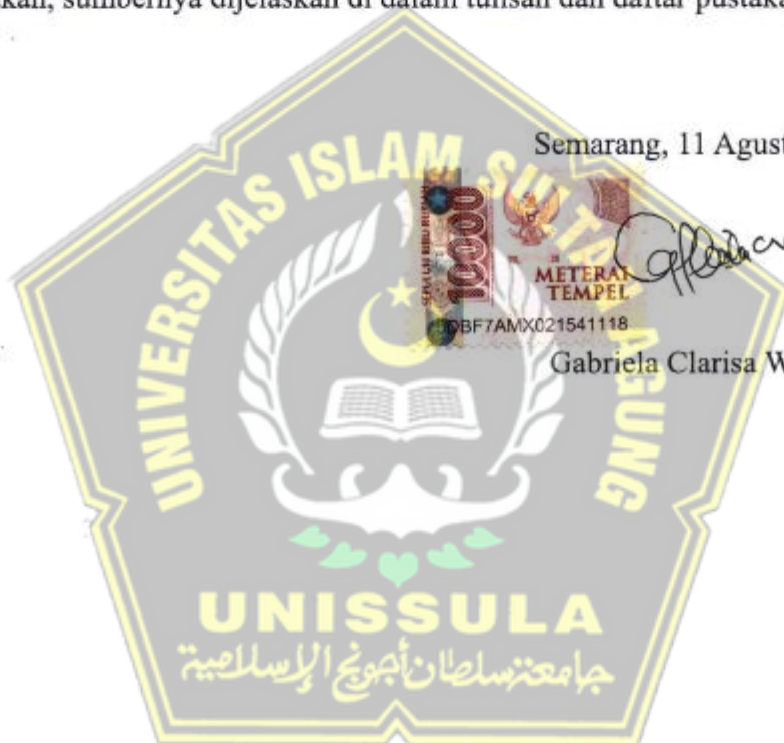


Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS  
NIK. 210113160

## PERNYATAAN

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



Gabriela Clarisa Wibowo

## RIWAYAT HIDUP

### A. Identitas

Nama Lengkap : Gabriela Clarisa Wibowo, dr.

Tempat/ Tanggal Lahir : Semarang, 7 Mei 1989

Agama : Kristen

Jenis Kelamin : Perempuan

### B. Riwayat Pendidikan

TK Kristen Bina Harapan Purbalingga : Tahun 1992 - 1994

SD Kristen Bina Harapan Purbalingga : Tahun 1994 - 2000

SMP Negeri 1 Purbalingga : Tahun 2000 - 2003

SMA Negeri 1 Purbalingga : Tahun 2003 - 2006

S1 Fakultas Kedokteran UNS Surakarta : Tahun 2006 - 2010

Profesi Dokter UNS Surakarta : Tahun 2010 - 2012

Magister Ilmu Biomedik FK UNISSULA: Tahun 2024 – sekarang

### C. Riwayat Keluarga

Nama Suami : Robby Yulianto, ST.

## KATA PENGANTAR

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

Penulis menyadari bahwa tesis ini dapat diselesaikan berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis berterima kasih kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung memberikan kontribusi dalam menyelesaikan penulisan tesis ini.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Gunarto, S.H., M.Hum, selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang beserta para Wakil Rektor yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menempuh dan menyelesaikan pendidikan Magister Biomedik.
2. 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.
3. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS, selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang, sekaligus Dosen Penguji III yang telah memberikan pengarahan dan dukungan dalam penyusunan tesis ini.

4. Dr. dr. Danis Pertiwi, M.Si.Med, Sp.PK, selaku Dosen Pembimbing I, yang telah memberikan banyak perhatian, waktu, kritik, saran, serta motivasi yang membangun bagi penulis selama penyusunan tesis ini.
5. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing II, yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan masukannya yang berharga selama proses penyusunan tesis ini.
6. Prof. Dr. Siti Thomas Zulaikhah, SKM., M.Kes, selaku Dosen Penguji II, yang telah memberi banyak masukan untuk perbaikan tesis ini.
7. Para dosen dan staf pengajar Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang telah memberikan ilmu dan wawasan selama masa studi, serta banyak membantu selama penyusunan tesis ini.
8. Keluarga tercinta, atas doa, dukungan, dan semangat yang selalu menyertai.
9. Rekan-rekan seperjuangan, atas kerja sama, motivasi, dan kebersamaan selama proses penyusunan tesis ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan 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

Gabriela Clarisa Wibowo

## ABSTRAK

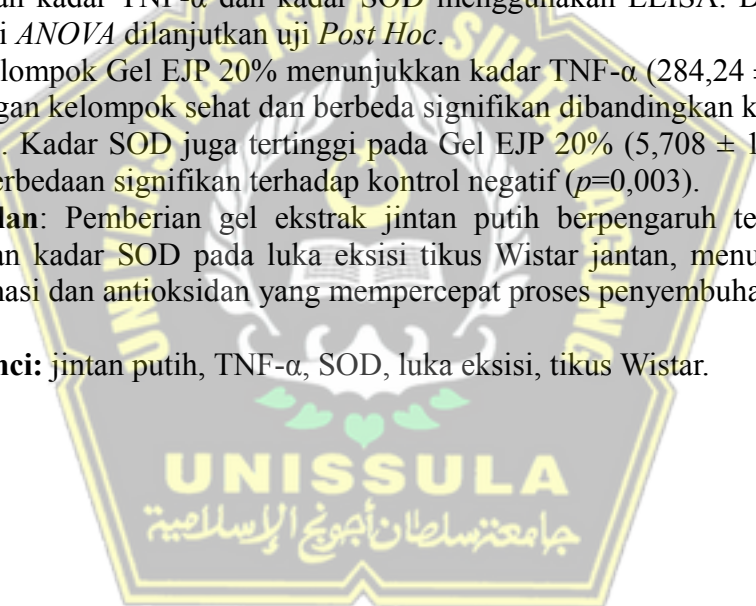
**Latar Belakang:** Kadar TNF- $\alpha$  (*Tumor Necrosis Factor-alpha*) yang berlebihan dan aktivitas antioksidan SOD (*Superoxide Dismutase*) yang rendah dapat mengganggu penyembuhan luka. Jintan putih (*Cuminum cyminum* L.) dikenal dengan sifat antiinflamasi dan antioksidan, namun pengaruhnya terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD dalam penyembuhan luka masih terbatas. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian gel ekstrak jintan putih (EJP) terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD pada luka eksisi tikus Wistar jantan.

**Metode:** Penelitian eksperimental *in vivo post-test only control group design* dilakukan pada 25 tikus Wistar jantan (2-3 bulan, 180-220 g) dibagi dalam lima kelompok secara acak sederhana: K1 (kelompok sehat), K2 (kontrol negatif, gel basis), K3 (kontrol positif, *povidone iodine*), K4 (gel EJP 10%), dan K5 (gel EJP 20%). Luka eksisi dibuat 8 mm pada kulit punggung tikus, diobati 2 kali sehari secara topikal selama 5 hari. Pada hari keenam, jaringan luka diambil untuk pengukuran kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD menggunakan ELISA. Data dianalisis dengan uji *ANOVA* dilanjutkan uji *Post Hoc*.

**Hasil:** Kelompok Gel EJP 20% menunjukkan kadar TNF- $\alpha$  ( $284,24 \pm 20,39$  ng/L) sama dengan kelompok sehat dan berbeda signifikan dibandingkan kontrol negatif ( $p=0,007$ ). Kadar SOD juga tertinggi pada Gel EJP 20% ( $5,708 \pm 1,156$  ng/mL), dengan perbedaan signifikan terhadap kontrol negatif ( $p=0,003$ ).

**Kesimpulan:** Pemberian gel ekstrak jintan putih berpengaruh terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD pada luka eksisi tikus Wistar jantan, menunjukkan efek antiinflamasi dan antioksidan yang mempercepat proses penyembuhan luka.

**Kata Kunci:** jintan putih, TNF- $\alpha$ , SOD, luka eksisi, tikus Wistar.



## ABSTRACT

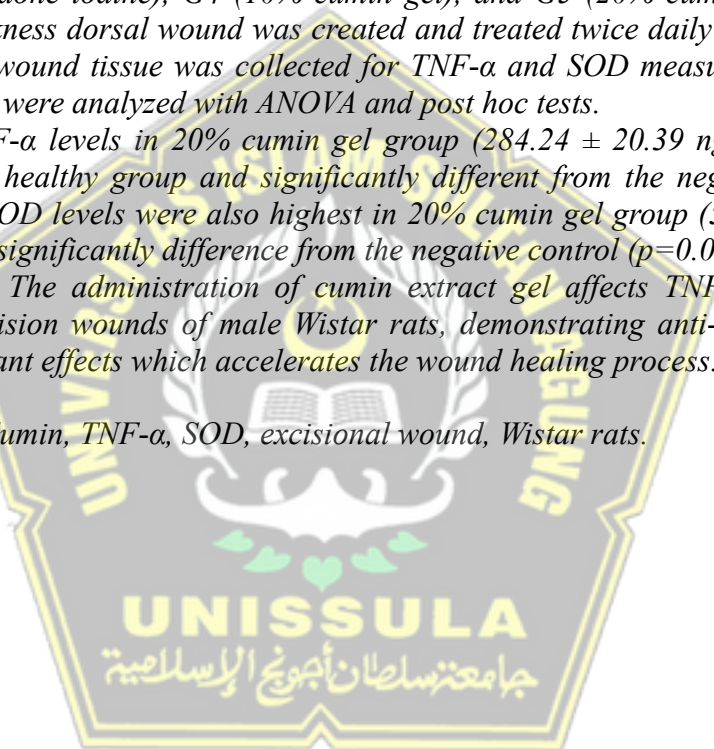
**Background:** Excessive tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and low superoxide dismutase (SOD) activity can impair wound healing. Cumin (*Cuminum cyminum* L.) contains bioactive compounds with potential anti-inflammatory and antioxidant effects, but its topical gel application in excisional wounds has not been evaluated. This study aims to evaluate the effect of cumin extract gel on TNF- $\alpha$  and SOD levels in excision wounds of male Wistar rats.

**Methods:** An experimental in vivo post-test only control group design was conducted on 25 male Wistar rats (2-3 months, 180-220 g) randomized into five groups: G1 (healthy control), G2 (negative control, gel base), G3 (positive control, povidone iodine), G4 (10% cumin gel), and G5 (20% cumin gel). An 8 mm full-thickness dorsal wound was created and treated twice daily for five days. On day six, wound tissue was collected for TNF- $\alpha$  and SOD measurement using ELISA. Data were analyzed with ANOVA and post hoc tests.

**Results:** TNF- $\alpha$  levels in 20% cumin gel group ( $284.24 \pm 20.39$  ng/L) were the same as the healthy group and significantly different from the negative control ( $p=0.007$ ). SOD levels were also highest in 20% cumin gel group ( $5.708 \pm 1.156$  ng/mL), and significantly difference from the negative control ( $p=0.003$ ).

**Conclusion:** The administration of cumin extract gel affects TNF- $\alpha$  and SOD levels in excision wounds of male Wistar rats, demonstrating anti-inflammatory and antioxidant effects which accelerates the wound healing process.

**Keywords:** Cumin, TNF- $\alpha$ , SOD, excisional wound, Wistar rats.



## DAFTAR ISI

|                                                               |       |
|---------------------------------------------------------------|-------|
| HALAMAN JUDUL.....                                            | i     |
| HALAMAN PENGESAHAN.....                                       | ii    |
| PERNYATAAN.....                                               | iii   |
| KATA PENGANTAR.....                                           | v     |
| ABSTRAK .....                                                 | vii   |
| <i>ABSTRACT</i> .....                                         | viii  |
| DAFTAR ISI .....                                              | ix    |
| DAFTAR SINGKATAN .....                                        | xiii  |
| DAFTAR GAMBAR .....                                           | xvi   |
| DAFTAR TABEL.....                                             | xvii  |
| DAFTAR LAMPIRAN.....                                          | xviii |
| BAB I PENDAHULUAN.....                                        | 1     |
| 1.1. Latar Belakang.....                                      | 1     |
| 1.2. Rumusan Masalah.....                                     | 3     |
| 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 TINJAUAN PUSTAKA.....                                  | 10    |
| 2.1. <i>Tumor Necrosis Factor-Alpha</i> (TNF- $\alpha$ )..... | 10    |
| 2.1.1. Definisi dan Struktur .....                            | 10    |
| 2.1.2. Jalur Persinyalan TNF- $\alpha$ .....                  | 12    |
| 2.1.3. Mekanisme Kerja TNF- $\alpha$ .....                    | 15    |
| 2.1.4. Faktor yang Mempengaruhi TNF- $\alpha$ .....           | 17    |
| 2.1.5. Metode Pemeriksaan Kadar TNF- $\alpha$ .....           | 19    |

|                                                             |                                                              |    |
|-------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|----|
| 2.2.                                                        | Superoksida Dismutase (SOD).....                             | 20 |
| 2.2.1.                                                      | Definisi .....                                               | 21 |
| 2.2.2.                                                      | Jalur Persinyalan SOD dan Faktor yang Mempengaruhi SOD ..... | 22 |
| 2.2.3.                                                      | Mekanisme Kerja SOD .....                                    | 24 |
| 2.2.4.                                                      | Metode Pemeriksaan Kadar SOD pada Jaringan Kulit .....       | 25 |
| 2.3.                                                        | Jintan Putih .....                                           | 26 |
| 2.3.1.                                                      | Definisi .....                                               | 26 |
| 2.3.2.                                                      | Taksonomi .....                                              | 27 |
| 2.3.3.                                                      | Kandungan dan Manfaat .....                                  | 27 |
| 2.3.4.                                                      | Peran Jintan Putih.....                                      | 30 |
| 2.3.5.                                                      | Gel Ekstrak Jintan Putih (EJP).....                          | 33 |
| 2.3.5.1.                                                    | Formulasi Gel.....                                           | 34 |
| 2.3.5.2.                                                    | Pelarut Ekstraksi .....                                      | 35 |
| 2.3.5.3.                                                    | Metode Ekstraksi.....                                        | 36 |
| 2.4.                                                        | Luka Eksisi .....                                            | 37 |
| 2.4.1.                                                      | Definisi .....                                               | 37 |
| 2.4.2.                                                      | Penyembuhan Luka .....                                       | 38 |
| 2.4.3.                                                      | Patomekanisme Penyembuhan Luka Eksisi secara Molekuler ..... | 41 |
| 2.4.4.                                                      | Faktor yang Mempengaruhi Penyembuhan Luka .....              | 43 |
| 2.4.4.1.                                                    | Usia .....                                                   | 43 |
| 2.4.4.2.                                                    | Diabetes.....                                                | 44 |
| 2.4.4.3.                                                    | Obesitas, Oksigen, dan Hipoksia .....                        | 45 |
| 2.4.4.4.                                                    | Epigenetik .....                                             | 47 |
| 2.5.                                                        | Tikus Wistar.....                                            | 49 |
| 2.6.                                                        | <i>Povidone Iodine</i> .....                                 | 51 |
| BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS ..... |                                                              | 52 |
| 3.1.                                                        | Kerangka Teori .....                                         | 52 |
| 3.2.                                                        | Kerangka Konsep .....                                        | 58 |
| 3.3.                                                        | Hipotesis .....                                              | 58 |
| BAB IV METODE PENELITIAN .....                              |                                                              | 59 |
| 4.1.                                                        | Jenis dan Rancangan Penelitian.....                          | 59 |

|                                             |                                                                      |    |
|---------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|----|
| 4.2.                                        | Populasi dan Sampel Penelitian.....                                  | 60 |
| 4.2.1.                                      | Subjek Penelitian.....                                               | 60 |
| 4.2.2.                                      | Besar Sampel.....                                                    | 61 |
| 4.2.3.                                      | Cara Pengambilan Sampel Penelitian .....                             | 62 |
| 4.3                                         | Variabel Penelitian.....                                             | 63 |
| 4.4                                         | Definisi Operasional .....                                           | 63 |
| 4.4.1                                       | Gel Ekstrak Jintan Putih (EJP) .....                                 | 63 |
| 4.4.2                                       | Kadar TNF- $\alpha$ .....                                            | 63 |
| 4.4.3                                       | Kadar SOD .....                                                      | 64 |
| 4.3.                                        | Bahan dan Alat Penelitian.....                                       | 64 |
| 4.3.1.                                      | Alat.....                                                            | 64 |
| 4.3.2.                                      | Bahan.....                                                           | 65 |
| 4.4.                                        | Prosedur Penelitian .....                                            | 66 |
| 4.4.1.                                      | <i>Ethical Clearance</i> .....                                       | 66 |
| 4.4.2.                                      | Cara Pembuatan Ekstrak Jintan Putih .....                            | 66 |
| 4.4.3.                                      | Cara Pembuatan Gel Ekstrak Jintan Putih .....                        | 67 |
| 4.4.4.                                      | Pembagian Kelompok .....                                             | 68 |
| 4.4.5.                                      | Persiapan Hewan Uji.....                                             | 68 |
| 4.4.6.                                      | Pemberian Terapi Topikal Gel EJP.....                                | 69 |
| 4.4.7.                                      | Pengambilan Sampel Jaringan Kulit Tikus .....                        | 69 |
| 4.4.8.                                      | Analisis Kadar TNF- $\alpha$ dan Kadar SOD dengan Metode ELISA ..... | 70 |
| 4.5.                                        | Alur Penelitian.....                                                 | 73 |
| 4.6.                                        | Analisis Data.....                                                   | 74 |
| 4.7.                                        | Tempat dan Waktu Penelitian .....                                    | 74 |
| BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN ..... |                                                                      | 76 |
| 5.1.                                        | Hasil Penelitian.....                                                | 76 |
| 5.1.1.                                      | Hasil Uji Standarisasi Ekstrak Jintan Putih.....                     | 77 |
| 5.1.2.                                      | Hasil Uji Kualitatif Fitokimia Ekstrak Jintan Putih .....            | 78 |
| 5.1.3.                                      | Hasil Uji Kuantitatif Flavonoid dan Mineral .....                    | 80 |
| 5.1.4.                                      | Hasil Pemeriksaan Kadar TNF- $\alpha$ pada Jaringan Kulit.....       | 81 |
| 5.1.5.                                      | Hasil Pemeriksaan Kadar SOD Jaringan Kulit .....                     | 84 |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.1.6. Gambaran Makroskopis pada Luka Eksisi Antar Kelompok ..... | 87  |
| 5.2. Pembahasan .....                                             | 90  |
| 5.2.1. Pembahasan Uji Standarisasi Ekstrak Jintan Putih.....      | 90  |
| 5.2.2. Pembahasan Skrining Fitokimia Ekstrak Jintan Putih.....    | 92  |
| 5.2.3. Pengaruh Pemberian EJP terhadap Kadar TNF- $\alpha$ .....  | 96  |
| 5.2.4. Pengaruh Pemberian EJP terhadap Kadar SOD .....            | 100 |
| 5.2.4. Pengaruh Pemberian EJP terhadap Makroskopis Luka .....     | 106 |
| 5.2.6. Keterbatasan Penelitian .....                              | 107 |
| BAB VI_KESIMPULAN.....                                            | 109 |
| 6.1 Kesimpulan.....                                               | 109 |
| 6.2 Saran .....                                                   | 110 |
| DAFTAR PUSTAKA .....                                              | 111 |
| LAMPIRAN.....                                                     | 119 |



## DAFTAR SINGKATAN

|                               |   |                                                  |
|-------------------------------|---|--------------------------------------------------|
| $\alpha$ -SMA                 | : | <i><math>\alpha</math>-Smooth Muscle Actin</i>   |
| AGEs                          | : | <i>Advanced Glycation End-products</i>           |
| Akt                           | : | <i>Protein kinase B</i>                          |
| AP-2                          | : | <i>Activator Protein 2</i>                       |
| AQPs                          | : | <i>Aquaporin</i>                                 |
| ARE                           | : | <i>Antioxidant Response Element</i>              |
| ATM                           | : | <i>Ataxia-Telangiectasia Mutated</i>             |
| Bp                            | : | <i>Base Pairs</i>                                |
| CAT                           | : | <i>Catalase</i>                                  |
| Cds1                          | : | <i>Cell Division Cycle 1</i>                     |
| cIAP-1                        | : | <i>Cellular Inhibitor of Apoptosis Protein 1</i> |
| CNS                           | : | <i>Central Nervous System</i>                    |
| CREB                          | : | <i>cAMP Response Element-Binding Protein</i>     |
| CW                            | : | <i>Chronic Wound</i>                             |
| DAMPs                         | : | <i>Damage-Associated Molecular Patterns</i>      |
| Dun1                          | : | <i>DNA Damage Unwind 1</i>                       |
| EGF                           | : | <i>Epithelial Growth Factor</i>                  |
| EJP                           | : | <i>Ekstrak Jintan Putih</i>                      |
| ELISA                         | : | <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>         |
| ERK                           | : | <i>Extracellular Signal-Regulated Kinases</i>    |
| Etk                           | : | <i>Eph-related Tyrosine Kinase</i>               |
| FADD                          | : | <i>Fas-Associated protein with Death Domain</i>  |
| FGF                           | : | <i>Fibroblast Growth Factor</i>                  |
| FOXO                          | : | <i>Forkhead Box O</i>                            |
| G6PD                          | : | <i>Glukosa-6 Fosfat Dehidrogenase</i>            |
| GPX                           | : | <i>Glutation Peroksidase</i>                     |
| GRD                           | : | <i>Glutation Reduktase</i>                       |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | : | <i>Hidrogen Peroksida</i>                        |

|                             |   |                                                                       |
|-----------------------------|---|-----------------------------------------------------------------------|
| HATs                        | : | <i>Histone Acetyltransferases</i>                                     |
| HDAC3                       | : | <i>Histone Deacetylase 3</i>                                          |
| HDACs                       | : | <i>Histone Deacetylases</i>                                           |
| HPI                         | : | <i>Hiperpigmentasi Pasca Inflamasi</i>                                |
| IFN- $\gamma$               | : | <i>Interferon Gamma</i>                                               |
| IGF-1                       | : | <i>Insulin-like Growth Factor-1</i>                                   |
| IHC                         | : | <i>Immunohistochemistry</i>                                           |
| IL                          | : | <i>Interleukin</i>                                                    |
| iNOS                        | : | <i>inducible Nitric Oxide Synthase</i>                                |
| IPAH                        | : | <i>Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension</i>                     |
| JAK-STAT                    | : | <i>Janus Kinase-Signal Transducer and Activator of Transcription</i>  |
| JNK                         | : | <i>C-Jun N-Terminal Kinase</i>                                        |
| kDa                         | : | <i>Kilodalton</i>                                                     |
| LPS                         | : | <i>Lipopolysaccharide</i>                                             |
| MAPK                        | : | <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>                               |
| Mec1                        | : | <i>Mre11 Complex Subunit 1</i>                                        |
| MIA                         | : | <i>Sodium Monoiodoacetate</i>                                         |
| MLKL                        | : | <i>Mixed Lineage Kinase Domain-Like</i>                               |
| MMPs                        | : | <i>Matrix Metalloproteinase</i>                                       |
| MMP-1                       | : | <i>Matrix Metalloproteinase-1</i>                                     |
| NADPH                       | : | <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Hydrogen</i>           |
| NF- $\kappa$ B              | : | <i>Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer Of Activated B Cells</i> |
| NO                          | : | <i>Nitric Oxide</i>                                                   |
| NRF2                        | : | <i>Nuclear factor erythroid 2-related factor 2</i>                    |
| O <sub>2</sub>              | : | <i>Oksigen</i>                                                        |
| O <sub>2</sub> <sup>-</sup> | : | <i>Superoksida</i>                                                    |
| p38                         | : | <i>p38 Mitogen-Activated Protein Kinase</i>                           |
| PAMPs                       | : | <i>Pathogen-Associated Molecular Patterns</i>                         |
| PDGF                        | : | <i>Platelet-Derived Growth Factor</i>                                 |

|                 |   |                                                           |
|-----------------|---|-----------------------------------------------------------|
| PI3K            | : | <i>Phosphoinositide 3-kinase</i>                          |
| PRRs            | : | <i>Reseptor Pengenalan Patogen</i>                        |
| Rel             | : | <i>vRel Oncogene Homolog</i>                              |
| RIP-1           | : | <i>Receptor-Interacting Protein 1</i>                     |
| RIPK3           | : | <i>Receptor-Interacting Protein Kinase 3</i>              |
| ROR- $\gamma$ t | : | <i>RAR-Related Orphan Receptor Gamma t</i>                |
| ROS             | : | <i>Reactive Oxygen Species</i>                            |
| SOD             | : | <i>Superoksida Dismutase</i>                              |
| Sp1             | : | <i>Specificity Protein 1</i>                              |
| SPPL2b          | : | <i>Signal Peptide Peptidase-Like 2B</i>                   |
| STAT3           | : | <i>Signal Transducer and Activator of Transcription 3</i> |
| sTNF- $\alpha$  | : | <i>Soluble Tumor Necrosis Factor Alpha</i>                |
| TACE            | : | <i>TNF-<math>\alpha</math> Converting Enzyme</i>          |
| TGF- $\beta$    | : | <i>Transforming Growth Factor Beta</i>                    |
| Th17            | : | <i>T-helper 17 cells</i>                                  |
| TIMP            | : | <i>Tissue Inhibitor of Metalloproteinases</i>             |
| TLRs            | : | <i>Toll-Like Receptors</i>                                |
| tmTNF- $\alpha$ | : | <i>Transmembrane Tumor Necrosis Factor Alpha</i>          |
| TNFR1           | : | <i>Tumor Necrosis Factor Receptor 1</i>                   |
| TNFR2           | : | <i>Tumor Necrosis Factor Receptor 2</i>                   |
| TNF- $\alpha$   | : | <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>                        |
| TRADD           | : | <i>TNF Receptor-Associated Death Domain</i>               |
| TRAF-2          | : | <i>TNF Receptor-Associated Factor 2</i>                   |
| Tregs           | : | <i>T Regulator Cells</i>                                  |
| UAE             | : | <i>Ultrasonic-Assisted Extraction</i>                     |
| VEGF            | : | <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>                 |
| VEGFR2          | : | <i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2</i>      |
| WH              | : | <i>Wound Healing</i>                                      |

## DAFTAR GAMBAR

|            |                                                                                                                                                                                                                      |     |
|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Gambar 2.1 | Proses Biologi dari tmTNF- $\alpha$ dan sTNF- $\alpha$ .....                                                                                                                                                         | 14  |
| Gambar 2.2 | Jalur Persinyalan TNF- $\alpha$ .....                                                                                                                                                                                | 15  |
| Gambar 2.3 | Reaksi superoksida yang dikatalisis oleh SOD, GPX: glutathion peroksidase; PRX: peroksiredoksin; CLC-3: Cl-channel-3 .....                                                                                           | 25  |
| Gambar 2.4 | Jintan Putih ( <i>Cuminum cyminum</i> L.).....                                                                                                                                                                       | 26  |
| Gambar 2.5 | Mekanisme cumin menghambat jalur sinyal NF-kB dan MAPK .                                                                                                                                                             | 31  |
| Gambar 2.6 | Mekanisme molekuler dari flavonol terhadap peradangan akibat LPS .....                                                                                                                                               | 33  |
| Gambar 2.7 | Tahapan penyembuhan luka dan komponen seluler utamanya. ....                                                                                                                                                         | 43  |
| Gambar 2.8 | Faktor-faktor yang berkontribusi pada penyembuhan luka kronis.....                                                                                                                                                   | 49  |
| Gambar 2.9 | Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) strain Wistar .....                                                                                                                                                               | 51  |
| Gambar 3.1 | Kerangka Teori .....                                                                                                                                                                                                 | 57  |
| Gambar 3.2 | Kerangka Konsep .....                                                                                                                                                                                                | 58  |
| Gambar 4.1 | Skema Rancangan Penelitian .....                                                                                                                                                                                     | 59  |
| Gambar 4.2 | Alur Penelitian.....                                                                                                                                                                                                 | 73  |
| Gambar 5.1 | Perbandingan Kadar TNF- $\alpha$ antar Kelompok Perlakuan.....                                                                                                                                                       | 84  |
| Gambar 5.2 | Perbandingan Kadar SOD antar Kelompok Perlakuan .....                                                                                                                                                                | 87  |
| Gambar 5.3 | Gambaran Makroskopis Hari ke-0 (H0) 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%) ..... | 889 |

## DAFTAR TABEL

|           |                                                                                              |    |
|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabel 1.1 | Originalitas Penelitian .....                                                                | 5  |
| Tabel 5.1 | Uji Standarisasi Ekstrak Jintan Putih .....                                                  | 78 |
| Tabel 5.2 | Hasil Uji Kadar Flavonoid dan Logam dalam EJP .....                                          | 80 |
| Tabel 5.3 | Uji Deskriptif Rata-rata Kadar TNF- $\alpha$ dan Uji <i>One-Way ANOVA</i> .....              | 81 |
| Tabel 5.4 | Hasil Uji <i>Post Hoc LSD</i> setelah Perlakuan terhadap rata-rata kadar TNF- $\alpha$ ..... | 83 |
| Tabel 5.5 | Uji Deskriptif Rata-rata Kadar SOD dan Uji <i>One-Way ANOVA</i> .....                        | 85 |
| Tabel 5.6 | Hasil Uji <i>Post Hoc LSD</i> setelah Perlakuan terhadap Rata-rata Kadar SOD .....           | 86 |



## DAFTAR LAMPIRAN

|     |                                                                   |     |
|-----|-------------------------------------------------------------------|-----|
| 1.  | Surat Izin Pembuatan Ekstrak.....                                 | 119 |
| 2.  | Dokumentasi Ekstraksi .....                                       | 120 |
| 3.  | Dokumentasi Uji Kadar Air dan Kadar Abu EJP .....                 | 122 |
| 4.  | Dokumentasi Uji Fitokimia EJP .....                               | 124 |
| 5.  | Surat Uji Kadar Air dan Kadar Abu EJP .....                       | 126 |
| 6.  | Surat Uji Fitokimia EJP .....                                     | 127 |
| 7.  | Surat Izin Uji Bahan Aktif Ekstrak.....                           | 128 |
| 8.  | Surat Uji Kuantitatif Bahan Aktif EJP.....                        | 129 |
| 9.  | Sediaan Gel Ekstraksi Jintan Putih.....                           | 130 |
| 10. | <i>Ethical Clearance</i> .....                                    | 131 |
| 11. | Surat Keterangan Hewan .....                                      | 132 |
| 12. | Alat dan Bahan yang Digunakan untuk Perlakuan Tikus .....         | 134 |
| 13. | Dokumentasi Perlakuan Tikus .....                                 | 136 |
| 14. | Dokumentasi Pemberian Perlakuan dan Pengukuran Luka.....          | 137 |
| 15. | Dokumentasi Pengambilan Jaringan Kulit Tikus Untuk ELISA .....    | 139 |
| 16. | Dokumentasi Tabung-Tabung Reagen Berisi Jaringan Kulit Tikus..... | 140 |
| 17. | Dokumentasi Pemeriksaan ELISA jaringan TNF- $\alpha$ dan SOD..... | 141 |
| 18. | Surat Keterangan Hasil ELISA Jaringan TNF- $\alpha$ dan SOD.....  | 143 |
| 19. | Hasil SPSS .....                                                  | 148 |

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Luka merupakan disrupsi atau kerusakan pada jaringan hidup.<sup>1</sup> Proses penyembuhan luka melibatkan mekanisme migrasi dan proliferasi sel, sintesis matriks ekstraseluler, serta koordinasi faktor pertumbuhan dan sitokin dalam empat fase utama yaitu fase haemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling.<sup>2-5</sup> Fase inflamasi ditandai oleh infiltrasi berurutan neutrofil, makrofag, dan limfosit yang berperan dalam memulai dan mengatur proses penyembuhan luka.<sup>6</sup> Respons imun memegang peranan penting selama fase awal penyembuhan luka akut. Aktivasi sel-sel imun dan mediator inflamasi berfungsi memulai proses peradangan pada fase inflamasi luka. Aktivasi tersebut membantu pembersihan area luka secara optimal dan mendorong fase penyembuhan jaringan selanjutnya dalam proses regenerasi luka. Disregulasi sistem imun dapat menyebabkan inflamasi yang berkepanjangan selama proses penyembuhan luka, sehingga menghambat penyembuhan secara menyeluruh.<sup>4</sup>

Angka prevalensi luka kronis pada penerima manfaat Medicare di Amerika Serikat (AS) sebesar 14,5% pada tahun 2014. Jumlah tersebut meningkat menjadi 16,3% pada tahun 2019. Luka kronis yang tidak sembuh mempengaruhi 10,5 juta penerima manfaat Medicare di AS, angka ini

meningkat 2,3 juta dibandingkan pembaruan pada tahun 2014.<sup>7</sup> Berdasarkan Riskesdas 2018, sekitar 9,2% penduduk Indonesia mengalami cedera yang mengganggu aktivitas harian. Jenis cedera yang umum meliputi lecet atau memar (64,1%) dan luka robek (20,1%).<sup>8</sup> Peningkatan prevalensi luka kronis disebabkan karena beberapa faktor, seperti usia dan diabetes. Faktor-faktor tersebut menyebabkan perubahan *mikroenvironmental* luka dari fase akut menjadi kronis.<sup>3</sup>

*Mikroenvironment* luka kronis ditandai dengan banyaknya makrofag proinflamasi, peningkatan ekspresi mediator inflamasi seperti *tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ) dan interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ ), aktivitas matriks metalloproteinase yang meningkat, serta melimpahnya *reactive oxygen species* (ROS).<sup>4</sup> Kondisi tersebut menghambat migrasi dan proliferasi sel serta mempengaruhi ekspresi dan fungsi mediator antiinflamasi, sehingga penyembuhan luka tidak sempurna.<sup>9</sup> Pemanfaatan produk bahan alam telah terbukti memiliki potensi yang menjanjikan dalam pengobatan luka.<sup>10</sup> Produk bahan alam, seperti jintan putih telah terbukti memiliki potensi sebagai antiinflamasi dan antioksidan.<sup>11,12</sup> Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak biji jintan putih topikal memiliki potensi sebagai agen penyembuh luka, diantaranya melalui efek antiinflamasi dan antioksidan, akan tetapi penelitian terhadap sitokin proinflamasi khususnya seperti TNF- $\alpha$  dan antioksidan seperti SOD pada model luka eksisi masih sangat terbatas.<sup>13</sup>

Berdasarkan urian diatas, peneliti menilai bahwa penggunaan ekstrak jintan putih (EJP) topikal dalam proses inflamasi penyembuhan luka eksisi perlu diteliti lebih lanjut. Luka eksisi memungkinkan studi tentang berbagai proses penyembuhan, seperti perdarahan, inflamasi, pembentukan jaringan granulasi, reepitelisasi, angiogenesis, dan perombakan jaringan.<sup>14</sup> Penggunaan pelarut air : etanol sebesar 6 : 4 dipilih sebagai pelarut ekstraksi karena rendah toksisitas, hemat biaya, aman untuk obat dan makanan, serta efektif dalam berbagai metode ekstraksi.<sup>15-17</sup> Gel digunakan sebagai media aplikasi topikal karena menawarkan penetrasi yang lebih baik, sensasi dingin yang nyaman, dan tidak meninggalkan residu berminyak, dibandingkan salep atau krim.<sup>18,19</sup> Tikus jantan Wistar dipilih karena respons biologisnya terhadap penyembuhan luka mirip dengan manusia sehingga hasil penelitian ini relevan secara klinis<sup>20</sup> serta besar tikus sesuai untuk perlakuan luka eksisi.<sup>21</sup> Penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi dalam pengembangan terapi berbasis bahan alam untuk manajemen luka eksisi, dengan evaluasi pada kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Apakah terdapat pengaruh pemberian gel ekstrak jintan putih terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD jaringan kulit tikus jantan galur Wistar model luka eksisi?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1. Tujuan Umum**

Mengetahui pengaruh pemberian gel ekstrak jintan putih terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD jaringan kulit tikus jantan galur Wistar model luka eksisi.

#### **1.3.2. Tujuan Khusus**

1.3.2.1. Menganalisis perbedaan kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD pada jaringan kulit tikus jantan galur Wistar antara kelompok tikus sehat dan kelompok kontrol negatif dengan luka eksisi.

1.3.2.2. Menganalisis perbedaan kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD pada jaringan kulit tikus jantan galur Wistar model luka eksisi antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

1.3.2.3. Menganalisis perbedaan kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD pada jaringan kulit tikus jantan galur Wistar model luka eksisi antar kelompok perlakuan.

#### 1.4. Originalitas Penelitian

**Tabel 1.1 Originalitas Penelitian**

| Peneliti                       | Judul Penelitian                                                                                                                   | Metode                                                                                                                                                                                                                               | Hasil                                                                                                                                                                                                                                |
|--------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Morais, S. V. de et al. (2024) | <i>Impact of Cuminaldehyde and Indomethacin Co-Administration on Inflammatory Responses in MIA-Induced Osteoarthritis in Rats.</i> | Studi menggunakan tikus model osteoarthritis yang diinduksi oleh MIA (sodium monoiodoacetate), dengan pengobatan menggunakan cuminaldehyde 50mg/kg/hari dan indomethacin 2,5mg/kg/hari secara gabungan dibandingkan secara terpisah. | Kombinasi cuminaldehyde dan indomethacin secara signifikan menurunkan ekspresi biomarker inflamasi (TNF- $\alpha$ , IL-6, iNOS), serta mengurangi kerusakan tulang rawan dan stres oksidatif dibandingkan dengan penggunaan tunggal. |
| Ahmed et al. (2024)            | <i>Cumin (Cuminum cyminum L.) Seeds Accelerates Wound Healing In Rats: Possible Molecular Mechanisms.</i>                          | Studi eksperimental pada tikus Sprague Dawley dengan luka eksisi, diberikan ekstrak etanol:air biji jintan putih ( <i>Cuminum cyminum</i> L.) dalam dua dosis (250 mg/kg CCS dan 500 mg/kg CCS). menggunakan teknik ekstraksi UAE.   | Penggunaan ekstrak jintan putih meningkatkan kontraksi luka, kolagen, fibroblas, dan angiogenesis melalui peningkatan TGF- $\beta$ dan enzim antioksidan seperti SOD serta penurunan MDA.                                            |
| Singh et al (2021)             | <i>A review on traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and clinical research of dietary spice Cuminum cyminum L.</i>       | Studi menekankan pada mekanisme NF- $\kappa$ B dan MAPK yang dipengaruhi oleh <i>cumin polysaccharides</i> untuk mengatur sitokin proinflamasi.                                                                                      | Jalur MAPK dan NF- $\kappa$ B dipengaruhi untuk meningkatkan aktivitas makrofag dan modulasi inflamasi.                                                                                                                              |

| Peneliti                        | Judul Penelitian                                                                                                      | Metode                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Hasil                                                                                                                                                                                |
|---------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Sangeeta P. Bhat et al., (2014) | <i>Effect of Cuminum cyminum L. Seed Extracts on Pain and Inflammation.</i>                                           | Menggunakan ekstrak air dan etanol dari biji jintan putih yang diuji pada tikus dan mencit dengan range dosis 200-500mg/kg p.o untuk mengevaluasi aktivitas analgesik dan antiinflamasi. Uji dilakukan menggunakan metode <i>Acetic Acid-Induced Writhing</i> , <i>Carrageenan-Induced Paw Edema</i> , dan model granuloma dengan kapas. | Ekstrak air lebih efektif sebagai antiinflamasi, sementara ekstrak etanol menunjukkan aktivitas analgesik. Biomarker yang diukur termasuk volume edema dan jumlah kontraksi abdomen. |
| Anvar Shamsiev et al (2021)     | <i>Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Polyphenols and Antioxidants from Cumin (Cuminum cyminum L.)</i> | Penelitian ini berfokus pada optimasi ekstraksi polifenol dan antioksidan dari biji jintan ( <i>Cuminum cyminum L.</i> ) menggunakan pelarut etanol dan metode <i>ultrasonic-assisted extraction</i> (UAE).                                                                                                                              | Kondisi optimal UAE: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Konsentrasi etanol: 40%</li> <li>• Waktu ekstraksi: 51 menit</li> <li>• Suhu ekstraksi: 39°C</li> </ul>                |

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa jintan putih berpotensi dalam terapi inflamasi dan penyembuhan luka. Cuminaldehyde, sebagai senyawa aktifnya, terbukti menurunkan biomarker inflamasi seperti TNF- $\alpha$  dan IL-6,<sup>13,22</sup> meningkatkan angiogenesis melalui *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- $\beta$ ) dan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), serta mendukung aktivitas antioksidan dengan meningkatkan kadar SOD menggunakan metode ekstraksi UAE dengan konsentrasi etanol 70% dalam suhu 60°C selama 2 jam.<sup>13</sup> Jintan putih juga diketahui memengaruhi jalur

molekuler *Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer Of Activated B Cells* (NF- $\kappa$ B) dan *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK), yang berperan dalam modulasi inflamasi.<sup>11</sup> Studi lain menunjukkan efektivitas ekstrak air dan etanol jintan putih dalam aplikasi sistemik untuk menurunkan peradangan dan efek analgesik, menggunakan metode *Acetic Acid-Induced Writhing*, *Carrageenan-Induced Paw Edema*, dan model granuloma dengan kapas. Ekstrak air bekerja pada fase awal inflamasi dengan menekan pelepasan histamin, serotonin, dan kinin, yang berperan dalam respons peradangan. Efek antiinflamasi ini juga didukung oleh monoterpen seperti linalool,  $\gamma$ -terpinene,  $\alpha$ -pinene, dan  $\beta$ -pinene, yang berkontribusi terhadap sifat farmakologis jintan putih.<sup>23</sup>

Penelitian ini berfokus pada aplikasi gel ekstrak jintan putih (EJP) secara topikal dengan mengevaluasi kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD pada model luka eksisi. Luka eksisi dipilih sebagai model penyembuhan luka karena dapat menggambarkan luka klinis akut di mana tepi kulit tidak dijahit. Luka ini dihasilkan dengan cara mengangkat seluruh lapisan kulit, termasuk epidermis, dermis, dan lemak subkutan, pada hewan percobaan. Model ini memungkinkan penelitian untuk mempelajari berbagai proses penyembuhan, seperti perdarahan, inflamasi, pembentukan jaringan granulasi, reepitelialisasi, angiogenesis, dan perombakan jaringan.<sup>14</sup> Berbeda dari penelitian sebelumnya, studi ini mengadopsi pendekatan topikal dengan pengukuran biomarker spesifik untuk menilai efektivitas penyembuhan luka. Metode *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE) merupakan teknik

ekstraksi yang cepat dan efisien, dengan pelarut etanol 40% (etanol : air = 4 : 6) selama 51 menit, dan suhu 39°C.<sup>15</sup> Penambahan air dalam etanol meningkatkan efisiensi ekstraksi sekaligus menjadikannya lebih aman dibandingkan pelarut organik lainnya.<sup>15-17</sup> Penelitian ini mengeksplorasi dosis 10% dan 20% EJP untuk menentukan dosis optimal dalam terapi luka. Formulasi gel diharapkan memberikan kontribusi baru dalam pemanfaatan bahan alami untuk terapi topikal, terutama dalam mengendalikan proses inflamasi dan efek antioksidan dalam penyembuhan luka.

## **1.5. Manfaat Penelitian**

### **1.5.1. Manfaat Teoritis**

Memberikan informasi pengaruh pemberian gel ekstrak jantan putih terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD jaringan kulit tikus jantan galur Wistar model luka eksisi.

### **1.5.2. Manfaat Praktis**

Memberikan informasi tentang potensi antiinflamasi dan antioksidan dari gel ekstrak jantan putih dalam penyembuhan luka di kulit. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar pengembangan terapi topikal dari bahan alam untuk penyembuhan luka, pencegahan infeksi, serta mempercepat proses pemulihan luka dengan memodulasi kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD pada jaringan luka. Selain itu, dapat menjadi acuan dalam pembuatan produk

farmasi untuk perawatan luka dengan efikasi yang lebih tinggi, terutama pada luka yang sulit sembuh.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- $\alpha$ )

##### 2.1.1. Definisi dan Struktur

TNF- $\alpha$  berperan sebagai regulator utama peradangan akut dan kronis, tidak hanya merangsang produksi sitokin proinflamasi, tetapi juga meningkatkan adhesi dan permeabilitas sel endotel, serta mendorong rekrutmen sel imun seperti neutrofil, monosit, dan limfosit ke lokasi peradangan. Dalam kondisi tertentu, TNF- $\alpha$  dapat memicu kematian sel melalui mekanisme apoptosis dan nekroptosis. Efek biologisnya bergantung pada interaksi dengan reseptor *Tumor Necrosis Factor Receptor 1* (TNFR1) dan *Tumor Necrosis Factor Receptor 2* (TNFR2), yang masing-masing mengaktifkan jalur pensinyalan spesifik. TNF- $\alpha$  larut (sTNF) yang berikatan dengan TNFR1 terutama memicu jalur inflamasi, sedangkan TNF- $\alpha$  transmembran (tmTNF) yang berinteraksi dengan TNFR2 berperan dalam modulasi sistem imun dan regenerasi jaringan. Sitokin ini diproduksi oleh sel imun bawaan, seperti makrofag dan sel *natural killer* (NK), serta oleh sel imun adaptif, khususnya sel T yang telah teraktivasi.<sup>24–26</sup>

**a) TNF- $\alpha$  transmembran (tmTNF- $\alpha$ )**

TNF- $\alpha$  transmembran adalah polipeptida tipe II yang terdiri dari 233 asam amino dengan berat molekul 26 kDa dan memiliki tiga domain utama yaitu domain ekstraseluler (177 asam amino) berperan dalam proses pematangan TNF- $\alpha$ , di mana enzim *TNF- $\alpha$  converting enzyme* (TACE) akan memotongnya untuk menghasilkan sTNF- $\alpha$ , domain transmembran (26 asam amino) berfungsi sebagai jangkar yang menautkan protein ke membran sel, sedangkan domain intraseluler (30 asam amino) berperan dalam *reverse signaling*, yaitu mengirimkan sinyal dari luar ke dalam sel setelah berinteraksi dengan reseptor TNF.<sup>27</sup>

**b) TNF- $\alpha$  larut (sTNF- $\alpha$ )**

TNF- $\alpha$  larut (sTNF- $\alpha$ ) yang terdiri dari 157 asam amino dengan berat molekul 17 kDa. sTNF- $\alpha$  berbentuk homotrimer.<sup>27</sup> sTNF- $\alpha$  dapat hadir dalam dua bentuk berbeda, yaitu bentuk trimerik yang aktif dan bentuk monomerik yang tidak aktif. Reseptor sitokin ini menunjukkan ekspresi yang berbeda pada berbagai jenis sel dan memicu respons pensinyalan yang independen.<sup>25</sup>

### 2.1.2. Jalur Persinyalan TNF- $\alpha$

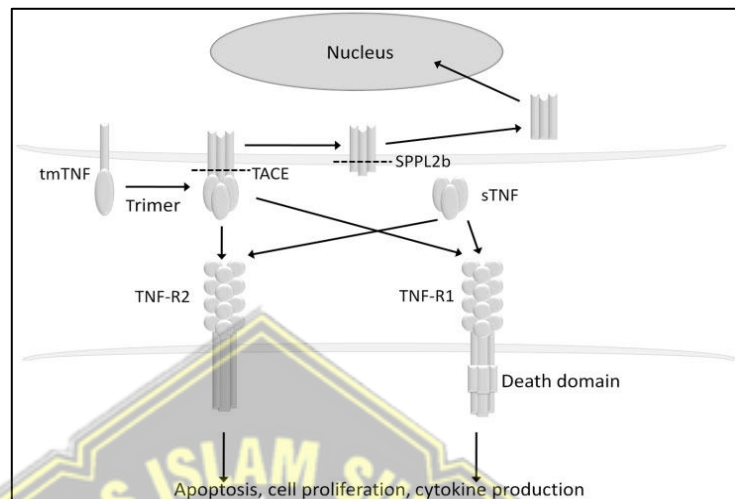
Interaksi antara sTNF- $\alpha$  dengan reseptor TNFR1 memicu aktivasi bagian intraseluler reseptor, yang kemudian berinteraksi dengan protein *TNF Receptor-Associated Death Domain* (TRADD). TRADD merekrut *Receptor-Interacting Protein 1* (RIP-1) dan *TNF Receptor-Associated Factor 2* (TRAF-2) untuk membentuk *Signal Complex I* yang berperan dalam mengaktifkan jalur NF- $\kappa$ B. Aktivasi ini mengontrol ekspresi gen yang mendukung kelangsungan hidup sel, produksi sitokin inflamasi, serta jalur antiapoptosis. Selain itu, *Signal Complex I* juga dapat mengaktifkan jalur protein seperti MAPK, *p38 Mitogen-Activated Protein Kinase* (p38), dan *C-Jun N-Terminal Kinase* (JNK), yang berperan dalam inflamasi dan regenerasi sel. Namun, *Signal Complex I* hanya terbentuk sementara dan kemudian terlepas dari TNFR1, memungkinkan protein *Fas-Associated protein with Death Domain* (FADD) untuk membentuk *Signal Complex II*. Kompleks ini mengaktifkan kaskade caspase yang memicu apoptosis. Jika jalur apoptosis dihambat akibat aktivitas RIP-1 dan RIP-3, maka proses nekrosis akan diaktifkan.<sup>24,25</sup>

TNFR2 terutama diaktifkan oleh tmTNF- $\alpha$  melalui interaksi langsung antar sel (*cell-to-cell interaction*).<sup>25</sup> TNFR2 berperan dalam homeostatis, proliferasi sel, serta perbaikan jaringan. Ketika TNF- $\alpha$  berikatan dengan TNFR2, bagian dalam reseptor ini merekrut kompleks TRAF-2–cIAP-1–cIAP-2 yang sudah ada di dalam

sitoplasma. Kompleks ini dapat menghambat caspase dan faktor-faktor pemicu apoptosis lainnya melalui aktivitas ubiquitin-ligase, yang kemudian memicu aktivasi jalur NF- $\kappa$ B baik secara kanonik maupun non-kanonik. Selain itu, interaksi TNF- $\alpha$  dengan TNFR2 juga mengaktifkan jalur *Phosphoinositide 3-kinase/ Protein kinase B* (PI3K/Akt). Jalur ini tidak hanya mendukung kelangsungan hidup dan proliferasi sel, tetapi juga merekrut *Eph-related Tyrosine Kinase* (Etk) untuk membentuk kompleks TNFR2-Etk-VEGFR2.<sup>24,25</sup> Aktivasi TNFR2 dapat menghambat sinyal inflamasi TNFR1 dengan mengurangi ketersediaan molekul persinyalan untuk TNFR1.<sup>24</sup> TNFR2 juga dapat menekan aktivasi caspase-8, sehingga mengurangi apoptosis dan necroptosis yang dimediasi TNFR1.<sup>25</sup>

Transmembran TNF- $\alpha$  merupakan bentuk prekursor dari sTNF- $\alpha$  yang diekspresikan pada sel penghasil TNF- $\alpha$  dalam bentuk homotrimer. Setelah diproses oleh TNF- $\alpha$  *Converting Enzyme* (TACE), sTNF- $\alpha$  terbentuk dan berikatan dengan TNFR1 atau TNFR2, sementara tmTNF- $\alpha$  juga dapat berinteraksi dengan kedua reseptor tersebut. Saat berikatan dengan reseptor TNF, baik tmTNF- $\alpha$  maupun sTNF- $\alpha$  memediasi berbagai efek biologis, termasuk apoptosis, proliferasi sel, dan produksi sitokin. Sisa tmTNF- $\alpha$  yang telah dipotong oleh TACE selanjutnya diproses oleh *Signal Peptide Peptidase-Like 2B* (SPPL2b), di mana domain intraselulernya ditranslokasikan ke dalam nukleus dan diduga berperan dalam

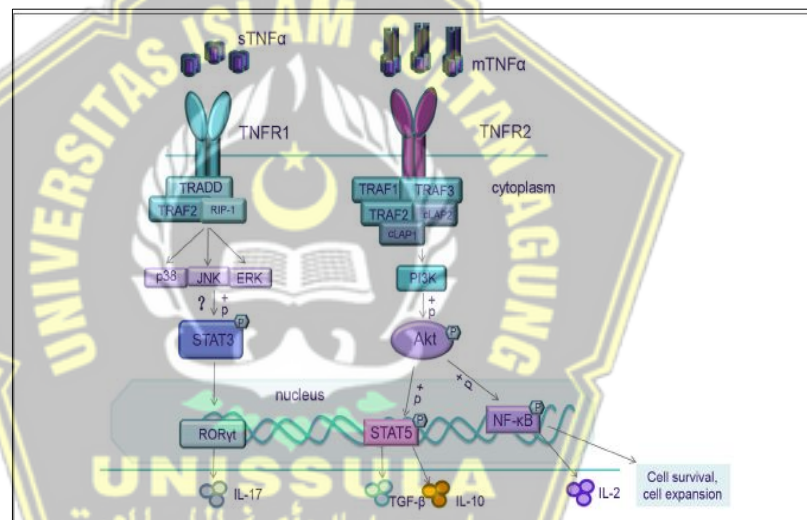
regulasi produksi sitokin. Proses ini dapat dilihat lebih lanjut pada gambar 2.1.<sup>27</sup>



**Gambar 2. 1** Proses Biologi dari tmTNF-α dan sTNF-α<sup>27</sup>

Aktivasi tmTNF/TNFR2 merekrut kompleks TRAF-2-cIAP-1-cIAP-2 yang sudah ada di sitoplasma, memicu aktivasi jalur NF-κB/Rel dan MAPK melalui mekanisme kanonik maupun non-kanonik. Aktivasi ini kemudian merangsang promotor IL-2, meningkatkan ekspresi IL-2, serta menyalin gen yang berperan dalam kelangsungan hidup dan proliferasi sel. Sinyal tmTNF/TNFR2 juga berkontribusi terhadap ekspansi dan stabilitas sel T regulator ( $T_{reg}$ ) serta meningkatkan sensitivitasnya terhadap kadar IL-2 yang rendah. Selain itu, aktivasi jalur PI3K/Akt secara timbal balik menghambat diferensiasi *T-helper 17 cells* (Th17), yang berkaitan dengan peningkatan fosforilasi *Signal Transducer and Activator of Transcription 5* (STAT5). Ilustrasi mekanisme jalur pensinyalan terdapat pada Gambar 2.2.<sup>24</sup>

Di sisi lain, aktivasi sTNF $\alpha$ /TNFR1 menyebabkan interaksi domain intraselulernya dengan TRADD, RIP-1, dan TRAF-2, membentuk Kompleks Sinyal I, yang selanjutnya mengaktifkan ERK (*extracellular signal-regulated kinases*), p38, dan JNK. Mekanisme TNFR1 dalam diferensiasi Th17 masih belum sepenuhnya dipahami, tetapi diperkirakan melibatkan fosforilasi STAT3, peningkatan ekspresi *RAR-Related Orphan Receptor Gamma t* (ROR- $\gamma$ t), serta peningkatan produksi IL-17.<sup>24</sup>



**Gambar 2.2** Jalur Persinyalan TNF- $\alpha$ <sup>24</sup>

### 2.1.3. Mekanisme Kerja TNF- $\alpha$

Makrofag, sel T, dan sel NK (*Natural Killer*) memproduksi TNF- $\alpha$  sebagai respons terhadap infeksi mikroba, stres seluler, atau aktivasi sistem imun.<sup>24</sup> Proses ini dimulai ketika reseptor *Toll-like* (TLRs) atau reseptor sitokin lain mengenali sinyal dari patogen (PAMPs) atau sel yang rusak (DAMPs).<sup>5</sup> Aktivasi ini memicu jalur

NF- $\kappa$ B, yang meningkatkan ekspresi gen TNF- $\alpha$ .<sup>5,25</sup> TNF- $\alpha$  pertama kali disintesis dalam bentuk tmTNF- $\alpha$ , yang kemudian diproses oleh TACE menjadi sTNF- $\alpha$  yang dilepaskan ke lingkungan ekstraseluler.<sup>27</sup> TNF- $\alpha$  kemudian berinteraksi dengan dua jenis reseptor, yaitu TNFR1 dan TNFR2. TNFR1 dapat diaktifkan oleh sTNF- $\alpha$  dan tmTNF- $\alpha$ , sementara TNFR2 hanya diaktifkan oleh tmTNF- $\alpha$ . Aktivasi TNFR1 memicu pembentukan *Signal Complex I*, yang melibatkan TRADD, RIPK1, TRAF2, dan cIAPs. Kompleks ini mengaktifkan NF- $\kappa$ B, yang meningkatkan produksi sitokin proinflamasi (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) serta jalur antiapoptosis. Jika sel mengalami stres atau infeksi berat, TNFR1 juga dapat mengaktifkan jalur apoptosis melalui caspase-8 atau jalur nekroptosis melalui RIPK3 dan MLKL. Sementara itu, TNFR2 lebih berperan dalam imunomodulasi dan regenerasi jaringan, dengan mengaktifkan jalur NF- $\kappa$ B non-kanonik serta meningkatkan produksi faktor pertumbuhan seperti VEGF dan IL-10.<sup>24,25</sup>

Peran TNF- $\alpha$  juga berpengaruh terhadap regulasi makrofag M1 dan M2. Aktivasi sel mikroglia dan induksi mereka ke dalam fenotipe proinflamasi M1 dimediasi oleh TNF- $\alpha$ . Fenotipe mikroglia M1 ditandai dengan peningkatan ekspresi sitokin proinflamasi seperti IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-8, dan IL-12, serta gen proinflamasi lainnya, yang bergantung pada jalur pensinyalan NF- $\kappa$ B. Sebaliknya, fenotipe mikroglia M2, yang diinduksi oleh IL-4, IL-10, IL-13, dan

TGF- $\beta$ , memiliki efek antiinflamasi dan mendukung pertumbuhan.<sup>25</sup> Pada fase inflamasi awal penyembuhan luka, TNF- $\alpha$  berperan dalam merekrut neutrofil dan monosit ke area luka untuk membersihkan jaringan mati dan patogen.<sup>5</sup> Selain itu, TNF- $\alpha$  menginduksi ekspresi molekul adhesi endotel, yang memfasilitasi perlekatan leukosit pada dinding pembuluh darah dan mempercepat migrasi mereka ke jaringan yang mengalami cedera.<sup>24</sup>

#### 2.1.4. Faktor yang Mempengaruhi TNF- $\alpha$

##### a) Stimulus Imun dan Infeksi

Lipopolisakarida (LPS) bakteri berfungsi sebagai stimulan utama sistem imun bawaan, di mana antigen mikroba, enterotoksin, dan sitokin memicu produksi TNF- $\alpha$  sebagai mediator utama peradangan. Selain berperan dalam respons inflamasi, TNF- $\alpha$  juga memainkan peran penting dalam pertahanan tubuh terhadap infeksi bakteri, virus, dan parasit, serta dalam pembentukan granuloma untuk mengendalikan infeksi *Mycobacterium tuberculosis*.<sup>24,27</sup>

##### b) Aktivasi Sel Imun

Makrofag dan monosit merupakan sel imun yang berperan dalam respon peradangan dengan melepaskan TNF- $\alpha$  setelah teraktivasi oleh antigen, IFN- $\gamma$ , atau lipopolisakarida (LPS).<sup>24,27</sup>

Selain itu, TNF dapat diproduksi oleh sel T ( $CD4^+$  &  $CD8^+$ ) dan sel imun bawaan, serta dapat bertindak pada sel T.<sup>28</sup> Sel NK turut berkontribusi dalam produksi  $TNF-\alpha$  yang dipicu oleh peningkatan pensinyalan reseptor TLRs.<sup>25</sup>

#### **c) Faktor Kondisi Mikro Lingkungan Seluler**

Faktor seperti jenis sel, status aktivasi, lingkungan intraseluler atau ekstraseluler, serta ketersediaan molekul adaptor mempengaruhi  $TNF-\alpha$  dalam mendukung kelangsungan hidup sel atau justru memicu kematian melalui apoptosis atau nekrosis. Selain itu, konsentrasi protein penghambat apoptosis (cIAP) dan tingkat ekspresi NF- $\kappa$ B juga berperan dalam menentukan apakah  $TNF-\alpha$  akan menginduksi respon inflamasi atau kematian sel.<sup>24</sup>

#### **d) Regulasi oleh Sitokin dan Jalur Persinyalan**

TNFR1 terutama diaktifkan oleh sTNF- $\alpha$  dan berperan dalam peradangan serta apoptosis melalui jalur NF- $\kappa$ B dan MAPK. Sementara itu, TNFR2 lebih spesifik terhadap tmTNF- $\alpha$  dan berfungsi dalam regulasi proliferasi sel, respon imun, serta neuroproteksi.<sup>24</sup>

### e) Efek Terapetik dan *Blockade* TNF- $\alpha$

Terapi anti-TNF- $\alpha$  telah terbukti efektif dalam mengatasi penyakit inflamasi kronis, namun penggunaannya dapat menimbulkan efek samping, termasuk eksaserbasi multiple sklerosis. Untuk mengurangi risiko tersebut, agonis TNFR2 yang menargetkan jalur antiinflamasi TNF- $\alpha$  menjadi alternatif terapeutik yang lebih selektif dan berpotensi lebih aman.<sup>24,25</sup>

#### 2.1.5. Metode Pemeriksaan Kadar TNF- $\alpha$

Metode pengukuran biomarker inflamasi pada penyembuhan luka eksisi menggunakan pendekatan imunologis melalui *Immunohistochemistry* (IHC) dan *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). IHC mendeteksi keberadaan dan distribusi sitokin serta faktor pertumbuhan dalam jaringan luka menggunakan metode antigen-antibodi, diikuti pewarnaan dengan enzim peroksidase atau fluoresen untuk observasi di bawah mikroskop. Metode ini membantu memahami respons imun seluler dan angiogenesis, tetapi bersifat semi-kuantitatif dan memerlukan pengolahan jaringan yang cermat. Sementara itu, ELISA digunakan untuk mengukur kadar sitokin secara kuantitatif, seperti TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10, dan VEGF, dalam homogenat jaringan atau cairan luka. Teknik ini lebih sensitif, spesifik, dan cepat, tetapi tidak memberikan informasi tentang lokasi ekspresi biomarker dalam jaringan.<sup>14</sup>

Salah satu biomarker inflamasi yang dianalisis dengan ELISA adalah TNF- $\alpha$ , yang merupakan indikator utama dalam respon inflamasi akut. ELISA bekerja berdasarkan interaksi antigen-antibodi, dimana enzim-konjugasi dan substrat enzim menghasilkan perubahan warna sebagai indikasi keberadaan analit tertentu. Pengukuran TNF- $\alpha$  melalui ELISA dilakukan dengan mengambil biopsi jaringan luka, yang kemudian dihomogenisasi dalam buffer dengan inhibitor protease, disentrifugasi, dan supernatan jaringan digunakan untuk analisis lebih lanjut.<sup>14,29</sup>

## 2.2. Superoksida Dismutase (SOD)

Antioksidan adalah molekul yang berfungsi untuk mencegah oksidasi yang disebabkan oleh molekul oksidan. Pada kondisi luka, baik yang bersifat akut maupun kronis, ekspresi enzim antioksidan biasanya meningkat. Namun, aktivitas enzim tersebut sering kali menurun karena tingginya stres oksidatif. Pemberian suplemen antioksidan pada luka dapat membantu melindungi sel dari kerusakan oksidatif dan mendukung proses penyembuhan luka. Antioksidan enzimatik meliputi superoksida dismutase (SOD) yang berperan melindungi ekstraseluler dari dampak negatif anion superoksida ( $O_2^-$ ), serta glutathion peroksidase (GPX) dan glutathion reduktase (GRD) yang membantu mengatasi dampak negatif hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Enzim lain yang juga berperan dalam mempertahankan tubuh dari radikal bebas adalah katalase, Glukosa-6 fosfat dehidrogenase

(G6PD), dan sistem sitokrom oksidase. Antioksidan non-enzimatik terdiri dari berbagai senyawa yang terbentuk secara alami dalam tubuh, seperti glutathione, albumin, transferin, laktoferin, seruloplasmin, ferritin, sistein, bilirubin, serta mikronutrien esensial seperti karotenoid ( $\beta$ -karoten), seng, selenium, dan vitamin A, B, C, D, E, K, yang sangat penting dalam menjaga integritas membran sel.<sup>30</sup>

### 2.2.1. Definisi

Superoksida dismutase (SOD) merupakan enzim yang melindungi jaringan ekstraseluler dari dampak negatif radikal superoksida.<sup>30</sup> SOD adalah enzim yang mengandung ion logam seperti Cu (tembaga), Mn (mangan), Zn (seng), dan lainnya. Dalam proses eliminasi radikal bebas, SOD memerlukan kofaktor seperti besi, mangan, tembaga, atau seng untuk mencapai aktivitas katalitik maksimum saat memetabolisme senyawa perantara yang bersifat toksik. Situs pengikat logam terletak di antara dua domain SOD, dan rantai sampingnya mencakup aspartat, histamin, dan histidin. Kofaktor-kofaktor ini cenderung menyumbangkan elektron kepada  $O_2^-$  dan mengalami regenerasi selama mekanisme katalitik berlangsung.<sup>31</sup>

SOD mengubah anion superoksida ( $O_2^-$ ) menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan oksigen ( $O_2$ ), yang merupakan bentuk yang lebih aman dan menghindari pembentukan ROS yang berlebihan.<sup>32</sup>

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> berperan sebagai *second messenger* yang berkontribusi dalam regulasi transduksi sinyal pada berbagai proses, termasuk inflamasi dan angiogenesis, serta memengaruhi ekspresi gen dalam keadaan fisiologis maupun patologis. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dapat berpindah melintasi membran sel melalui saluran air aquaporin (AQPs), yang memungkinkan penyebaran sinyal redoks dari area pembentukannya ke lokasi target dalam sel.<sup>31</sup>

## 2.2.2. Jalur Persinyalan SOD dan Faktor yang Mempengaruhi SOD

### a) Regulasi Ekspresi SOD1

Gen SOD1, yang membantu mencegah kerusakan DNA akibat stres oksidatif, diatur oleh sinyal oksidatif utama yaitu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Saat kadar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> meningkat, SOD1 berpindah ke nukleus dan berikatan dengan kinase efektor seperti Mec1, ATM, dan Cds1/Dun1. Fosforilasi Dun1 pada S59 dan S98 memperkuat lokalisasi nuklir SOD1, yang kemudian mengatur ekspresi gen respons oksidatif, meningkatkan ketahanan terhadap stres oksidatif, serta memperbaiki kerusakan DNA dan replikasi seluler. Namun, polimorfisme genetik, mutasi, serta modifikasi epigenetik, seperti asetilasi histon, dapat menurunkan ekspresi SOD1, yang berkontribusi terhadap perkembangan penyakit seperti katarak terkait usia.<sup>31</sup>

### b) Regulasi Ekspresi SOD2

Gen SOD2 dikodekan oleh gen nuklir, ditranskripsi di sitoplasma, dan diproses lebih lanjut di mitokondria. Faktor transkripsi seperti Sp1, AP-2, NF- $\kappa$ B, CREB, dan FOXO berperan dalam mengontrol ekspresi SOD2, sementara modifikasi epigenetik, seperti asetilasi dan metilasi histon, juga memengaruhi tingkat transkripsinya. Penelitian pada tikus menunjukkan bahwa defisiensi mangan menurunkan ekspresi SOD2, menghambat aktivitas enzim, serta mengurangi kadar mRNA SOD2 di hati.<sup>31</sup>

### c) Regulasi Ekspresi SOD3

Transkripsi SOD3 dikendalikan oleh modifikasi epigenetik pada wilayah promotornya, termasuk metilasi DNA serta asetilasi dan deasetilasi histon. Enzim ini hanya diekspresikan pada sel tertentu, seperti fibroblas paru, sel epitel, dan sel otot polos vaskular. Asetilasi histon berperan dalam meningkatkan ekspresi gen dengan mengurangi afinitas elektrostatis antara histon dan DNA, sehingga struktur kromatin lebih terbuka dan memungkinkan akses faktor transkripsi. Regulasi ekspresi SOD3 bergantung pada keseimbangan antara *histone acetyltransferases* (HATs) dan *histone deacetylases* (HDACs), di mana inhibitor HDAC3 dapat meningkatkan ekspresi SOD3 secara signifikan,

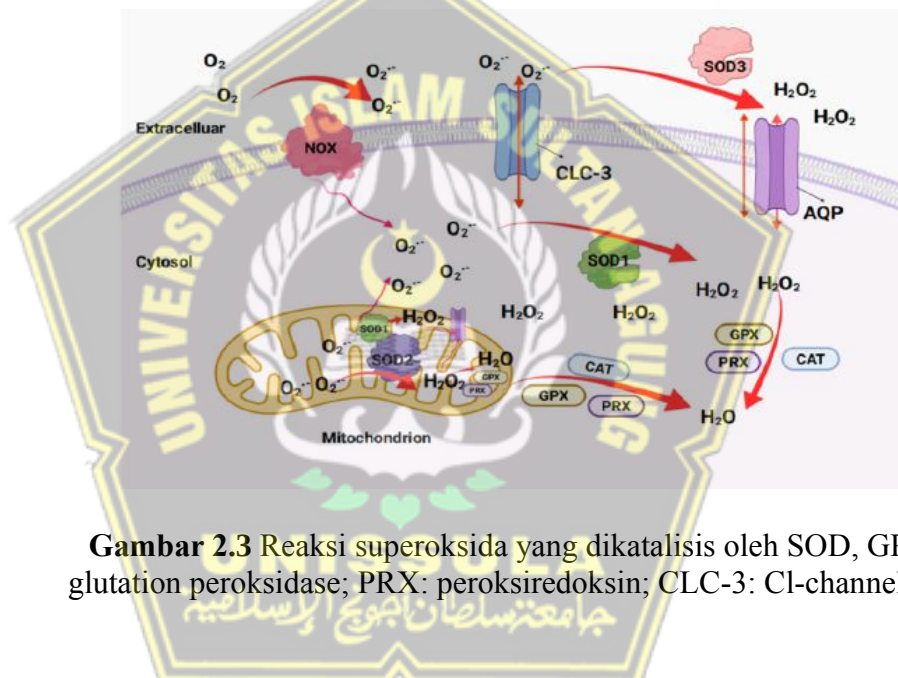
yang terbukti bermanfaat dalam mengurangi hipertensi arteri pulmonal idiopatik (IPAH).<sup>31</sup>

### 2.2.3. Mekanisme Kerja SOD

Neutrofil dan makrofag menghasilkan superoksida dalam jumlah besar untuk melawan patogen dan mendukung fagositosis. Produksi ROS yang berlebihan dapat merusak jaringan sehat di sekitar luka. SOD berperan dalam mencegah kerusakan ini dengan menetralkan superoksida, menjaga keseimbangan redoks yang penting bagi proses penyembuhan. Selama fase proliferasi,  $H_2O_2$  yang dihasilkan oleh SOD berfungsi sebagai molekul sinyal untuk angiogenesis dengan merangsang produksi VEGF. VEGF berperan dalam regenerasi jaringan dan suplai oksigen ke luka. Selain itu, tingkat ROS yang terkendali mendukung migrasi dan proliferasi sel epitel serta fibroblas dalam pembentukan matriks ekstraseluler. Pada fase remodeling, SOD memastikan keseimbangan ROS agar tidak menghambat konversi kolagen tipe III menjadi tipe I, yang diperlukan untuk memperkuat jaringan baru.<sup>30,32</sup>

Reaksi superoksida yang dimediasi oleh SOD dapat dilihat pada Gambar 2.3, bersama dengan peran GPX, PRX, dan CLC-3. Superoksida intraseluler dan ekstraseluler diproduksi oleh NADPH oksidase (NOX) yang terikat pada membran plasma. SOD1 dan SOD2 mengubah superoksida intraseluler menjadi  $H_2O_2$  dan

molekul oksigen, sementara SOD3 mengubah superoksida ekstraseluler menjadi  $\text{H}_2\text{O}_2$  dan molekul oksigen.  $\text{H}_2\text{O}_2$  ekstraseluler diangkut ke dalam sel melalui saluran aquaporin (AQP) dan diubah menjadi air oleh aktivitas katalase (CAT), peroksidase (PRX), dan glutathion peroksidase (GPX). Superoksida ekstraseluler dapat masuk ke dalam sel melalui saluran *Cl-channel-3* (CLC-3) dan dioksidasi serta diproses oleh SOD1 atau SOD2 untuk menghasilkan  $\text{H}_2\text{O}_2$ .<sup>31</sup>



**Gambar 2.3** Reaksi superoksida yang dikatalisis oleh SOD, GPX: glutathion peroksidase; PRX: peroksiredoksin; CLC-3: Cl-channel-3.<sup>31</sup>

#### 2.2.4. Metode Pemeriksaan Kadar SOD pada Jaringan Kulit

Pengukuran aktivitas SOD dapat dilakukan menggunakan berbagai metode, salah satunya adalah ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Metode ELISA banyak digunakan untuk mendeteksi dan mengukur kadar SOD dalam berbagai sampel biologis, seperti darah, jaringan, atau kultur sel. Prinsip kerja ELISA berbasis reaksi antigen-antibodi, di mana antibodi spesifik terhadap

SOD digunakan untuk menangkap dan mengukur enzim dalam sampel. Metode ini memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan metode spektrofotometri konvensional dan dapat memberikan hasil yang lebih akurat dalam analisis kuantitatif aktivitas SOD.<sup>33,34</sup>

### 2.3. Jintan Putih



**Gambar 2.4** Jintan Putih (*Cuminum cyminum* L.)<sup>35</sup>

#### 2.3.1. Definisi

Jintan putih dengan nama latin *Cuminum cyminum* L., merupakan tanaman herbal dari famili Apiaceae yang sering digunakan sebagai bumbu masakan dan bahan dalam pengobatan tradisional. Jintan putih memberikan aroma dan rasa yang khas, memiliki berbagai manfaat kesehatan berkat kandungan senyawa bioaktif di dalamnya.<sup>11</sup> Banyak studi telah melaporkan bahwa jintan putih memiliki berbagai aktivitas biologis, termasuk sifat antioksidan, antikanker, antimikroba, antialergi, antiinflamasi,

antiproliferatif, hepatoprotektif, pelindung DNA, dan anti-penuaan.<sup>12,35,36</sup>

### 2.3.2. Taksonomi

Kingdom : Plantae  
 Divisi : Magnoliophyta  
 Kelas : Magnoliopsida  
 Ordo : Apiales  
 Famili : Apiaceae  
 Genus : *Cuminum* L.  
 Spesies : *Cuminum cyminum* L.<sup>12,35</sup>

### 2.3.3. Kandungan dan Manfaat

Biji jintan putih adalah bahan alam yang kaya akan alkaloid, kumarin, antrakuinon, flavonoid (dengan kandungan 4,15–5,75%, di antaranya luteolin, apigenin, dan quercetin sebagai flavonoid utama), glikosida, protein, resin, saponin, tanin, steroid, serat makanan, mineral, lemak tak jenuh tunggal, serta vitamin B (tiamin, vitamin B6, niasin, riboflavin), vitamin A, vitamin C, dan vitamin E.<sup>11</sup> Kandungan utama dari ekstrak jintan putih (EJP) adalah cuminaldehyde (19.9–64.31 %), kandungan lainnya yang cukup besar antara lain  $\gamma$ -terpinene (6.49–27 %), p-cymene (11.82–18.12 %), beta-pinene (11.13–11.59 %).<sup>12,36</sup> Sumber lain menyebutkan

dua kandungan tertinggi dari EJP adalah cuminaldehyde (27.6) dan terpinene (17.25).<sup>35</sup>

#### a) Terpenoid

- Cuminaldehyde: antimikroba, antidiabetes, insektisida, antiinflamasi, antioksidan.<sup>11,12,35,37</sup>
- Cymene & Thymol: antiseptik, antiinflamasi, antidiabetes, neuroprotektif.<sup>11,12</sup>
- Limonene & Eugenol: antikanker, antioksidan, antiinflamasi.<sup>11,12,35</sup>
- *Phytoestrogen & Monoterpene Alcohols*: antiosteoporosis.<sup>11,35</sup>
- *Cuminic Alcohol & Linalool*: antiinflamasi, antimikroba, analgesik.<sup>11,35</sup>

#### b) Flavonoid

- Luteolin & Apigenin: gastroprotektif, antiinflamasi.<sup>11</sup>
- Quercetin: antiinflamasi, antioksidan, antikanker, antiapoptosis, antihipertensi, neuroprotektif.<sup>11,12,38</sup>
- Rosmarinic Acid: antioksidan kuat, meningkatkan fungsi kognitif.<sup>12</sup>

#### c) Fitohormon (Fitosterol)

- $\beta$ -Sitosterol: Menurunkan kolesterol.<sup>11</sup>

#### d) Nutrisi dan Mineral

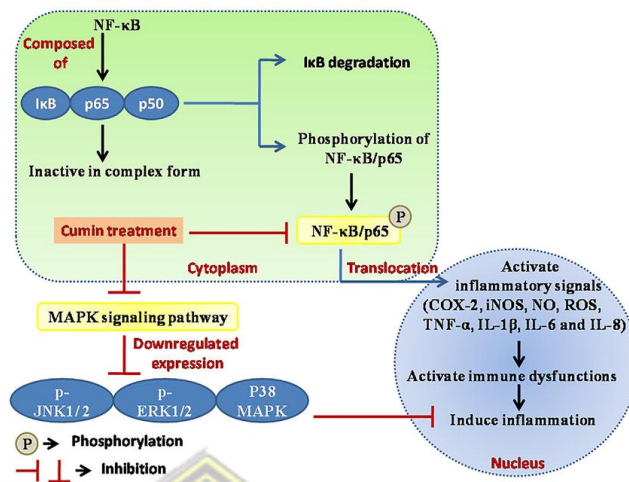
Dalam setiap 2 gram biji jintan putih, terkandung sejumlah energi sebesar 7,50 kalori, dengan 4,00 kalori berasal dari lemak dan 0,28 kalori dari lemak jenuh. Komposisi makronutrientnya meliputi protein sebesar 0,36 gram, karbohidrat 0,88 gram, serta serat pangan 0,22 gram. Selain itu, jintan mengandung total lemak sebesar 0,44 gram, yang terdiri atas lemak jenuh (0,04 gram), lemak tak jenuh tunggal (0,28 gram), dan lemak tak jenuh ganda (0,06 gram). Kandungan air dan abu masing-masing sebesar 0,16 gram.<sup>12</sup>

Selain makronutrien, jintan juga mengandung berbagai vitamin dan mineral yang berperan penting dalam fungsi biologis. Kandungan vitaminnya mencakup vitamin A sebesar 25,40 IU (2,54 RE),  $\alpha$ -karotenoid 2,54 RE, dan beta-karoten 15,24  $\mu$ g, vitamin B1 (0,02 mg) dan vitamin B3 (0,10 mg), vitamin C (0,16 mg), dan vitamin E dalam bentuk setara alfa-tokoferol (0,02 mg atau 0,04 IU), folat (0,20  $\mu$ g), serta vitamin K (0,11  $\mu$ g), sementara kandungan mineral jintan mencakup kalsium (18,62 mg), tembaga (0,02 mg), zat besi (1,32 mg), magnesium (7,32 mg), mangan (0,06 mg), fosfor (9,98 mg), kalium (35,76 mg), selenium (0,10  $\mu$ g), natrium (3,36 mg), dan seng (0,10 mg). Jintan juga mengandung asam lemak dalam jintan terdiri atas asam

palmitat (0,02 g), asam oleat (0,28 g), asam linoleat (0,06 g), dan asam lemak omega-6 (0,06 g).<sup>12</sup>

#### 2.3.4. Peran Jintan Putih

Mekanisme aksi dari jintan putih (*Cuminum cyminum* L.) dalam mengatasi peradangan melibatkan aktivasi jalur sinyal utama, yaitu NF- $\kappa$ B dan MAPK, yang berperan penting dalam respons imun dan peradangan. Aktivasi ini menyebabkan proses proteolisis dan fosforilasi yang mengarah pada pemecahan kompleks NF- $\kappa$ B/I $\kappa$ B, memungkinkan NF- $\kappa$ B untuk berpindah ke inti sel dan mengatur ekspresi gen mediator inflamasi. Selain itu, jalur MAPK, termasuk JNK, ERKs, dan p38, turut berperan dalam memodulasi respons imun dan inflamasi, yang membantu mengatasi peradangan, infeksi, serta sel-sel abnormal. Penghambatan produksi nitric oxide (NO) melalui penurunan regulasi sitokin proinflamasi merupakan bagian penting dari mekanisme ini, yang berkontribusi pada pengurangan peradangan. Jalur sinyal NF- $\kappa$ B dan MAPK yang dihambat oleh cumin ditunjukkan secara visual pada Gambar 2.5.<sup>11</sup>

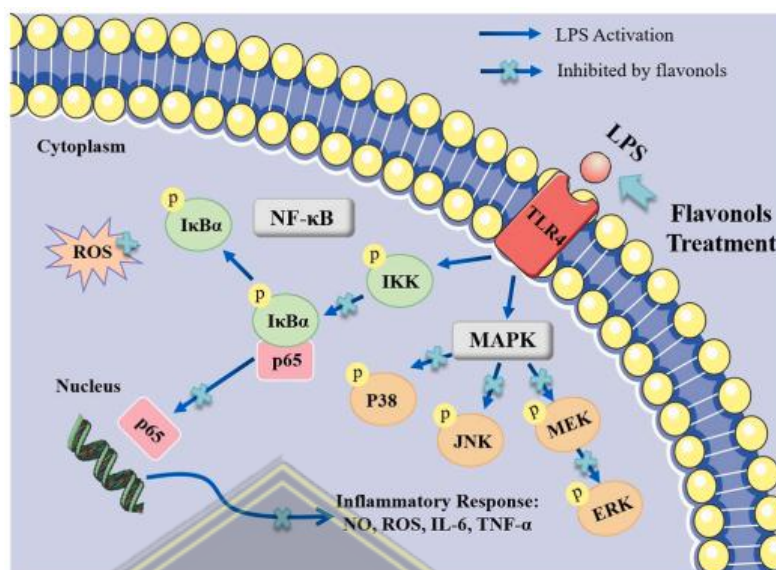


**Gambar 2. 5** Mekanisme cumin menghambat jalur sinyal NF-κB dan MAPK<sup>11</sup>

Quercetin merupakan senyawa flavonoid alami yang termasuk dalam subkelas flavonol dan dikenal memiliki kapasitas farmakologis yang luas. Senyawa ini secara struktural tersusun dari lima gugus hidroksil (OH) yang berperan sebagai donor elektron dan menjadi dasar bagi aktivitas antioksidan kuatnya. Aktivitas biologis quercetin mencakup kemampuan menetralkan spesies oksigen reaktif (ROS), nitrogen (RNS), dan klorin (RCS), serta mengkelasi ion logam transisi, menjadikannya senyawa yang penting dalam menjaga keseimbangan redoks seluler. Selain aktivitas antioksidan, quercetin juga memiliki sifat antiinflamasi, antiapoptosis, antikanker, dan antihipertensi.<sup>38</sup>

Salah satu mekanisme penting yang mendasari aktivitas biologis quercetin adalah kemampuannya dalam menghambat proses inflamasi melalui modulasi jalur pensinyalan molekuler. Mekanisme kerja flavonol terhadap respons inflamasi akibat lipopolisakarida

(LPS) diperlihatkan pada Gambar 2.6. Quercetin menunjukkan aktivitas antiinflamasi signifikan melalui modulasi jalur pensinyalan imun dan stres oksidatif. Dalam model makrofag RAW264.7 yang diinduksi oleh lipopolisakarida (LPS), suatu endotoksin bakteri gram-negatif yang umum digunakan sebagai model eksperimental inflamasi, quercetin menghambat aktivasi dua jalur utama yaitu MAPK dan NF- $\kappa$ B. Aktivasi TLR4 oleh LPS biasanya memicu fosforilasi protein MEK, ERK, JNK, dan p38 pada jalur MAPK, serta fosforilasi I $\kappa$ B $\alpha$  dan subunit p65 pada jalur NF- $\kappa$ B. Quercetin menghambat proses ini, sehingga mencegah translokasi p65 ke inti sel dan menurunkan transkripsi gen-gen proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-6, dan *inducible nitric oxide synthase* (iNOS). Penurunan ekspresi iNOS berdampak pada berkurangnya produksi *nitric oxide* (NO), molekul proinflamasi yang juga berperan sebagai prooksidan, bersamaan dengan penurunan produksi ROS, sehingga memperkecil kerusakan oksidatif jaringan.<sup>39</sup> Quercetin juga mengaktifkan jalur *nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (NRF2), yang meningkatkan afinitas terhadap elemen *antioxidant response element* (ARE), dan secara langsung menginduksi ekspresi berbagai enzim antioksidan endogen seperti SOD, *glutathione S-transferase* (GST), *heme oxygenase-1* (HO-1), dan *NAD(P)H quinone dehydrogenase 1* (NQO1). Aktivasi jalur NRF2-ARE ini memperkuat sistem pertahanan redoks seluler terhadap kerusakan oksidatif.<sup>38</sup>



**Gambar 2.6** Mekanisme molekuler dari flavonol terhadap peradangan akibat LPS<sup>39</sup>

### 2.3.5. Gel Ekstrak Jintan Putih (EJP)

United States Pharmacopeia (U.S.P.) mendefinisikan gel sebagai sistem semi-padat yang terdiri dari dispersi partikel kecil anorganik atau molekul organik besar yang terperangkap dalam cairan. Gel merupakan sistem encer dengan ikatan silang yang tidak mengalami aliran saat dalam keadaan stabil. Gel tersusun dari dua komponen semi-padat yang kaya cairan dan memiliki struktur kontinu yang memberikan sifat seperti padatan. Gel menjadi bahan utama dalam formulasi penghantaran obat karena biokompatibilitasnya, struktur jaringan, dan kestabilan molekuler zat bioaktif yang terkandung di dalamnya.<sup>19</sup>

### 2.3.5.1. Formulasi Gel

Gel memiliki keunggulan utama yaitu biokompatibilitas yang tinggi, sehingga dapat diterima dengan baik oleh kulit dan selaput lendir tanpa menimbulkan iritasi yang berarti. Struktur jaringan gel yang fleksibel memungkinkan pelepasan obat yang lebih terkontrol, sehingga meningkatkan efektivitas terapi. Kestabilan molekuler dalam gel juga lebih baik, memungkinkan zat bioaktif tetap terjaga tanpa mengalami degradasi yang signifikan. Sifat gel yang mudah diaplikasikan, tidak lengket, dan memberikan sensasi nyaman di kulit juga meningkatkan kepatuhan pasien terhadap pengobatan.<sup>19</sup>

Berdasarkan penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak jintan putih dengan pelarut etanol 70% pada dosis 250mg/kg dan 500mg/kg secara topikal memiliki potensi dalam mempercepat penyembuhan luka pada tikus.<sup>13</sup> Penelitian lain juga menunjukkan dosis 200mg/kg dan 500mg/kg per-oral pada ekstrak air jintan putih menunjukkan efek antiinflamasi.<sup>23</sup> Dalam penelitian ini, digunakan dosis 10% dan 20% ekstrak etanol:air (4:6) biji jintan putih secara topikal terhadap proses penyembuhan luka eksisi di kulit pada tikus Wistar.

### 2.3.5.2. Pelarut Ekstraksi

Pelarut berperan krusial dalam ekstraksi senyawa kimia. Tingkat kepolarannya menentukan efektivitas dalam mengekstrak senyawa target dari bahan baku. Penggunaan etanol sebagai pelarut dapat memberikan hasil optimal apabila konsentrasi, suhu, durasi, serta metode ekstraksi yang digunakan sesuai dengan karakteristik senyawa yang diekstrak.<sup>16</sup>

Etanol merupakan pelarut organik yang banyak digunakan dalam proses ekstraksi karena sifatnya yang relatif tidak toksik dibandingkan dengan aseton dan metanol. Selain itu, etanol memiliki biaya yang lebih rendah, kompatibel dengan berbagai metode ekstraksi, serta aman digunakan dalam produk obat-obatan dan makanan. Keunggulan lainnya adalah ketersediaannya yang mudah, efisiensi tinggi, serta sifatnya yang ramah lingkungan dengan kemampuan ekstraksi yang optimal, menjadikannya pilihan utama dalam berbagai penelitian dan industri.<sup>16</sup>

Penelitian menggunakan etanol dengan konsentrasi 40%, yaitu etanol:air sebesar 4:6, selama 51 menit pada suhu 39°C, dengan metode ekstraksi ultrasonik (*Ultrasonic-Assisted Extraction*, UAE) didapatkan hasil optimasi dengan yield ekstrak tertinggi sebesar 20,31%.<sup>15</sup>

### 2.3.5.3. Metode Ekstraksi

Proses ekstraksi diawali dengan pembukaan jaringan atau dinding sel melalui perlakuan panas, kemudian diikuti dengan penarikan senyawa target menggunakan pelarut organik yang sesuai. Dalam proses ekstraksi, bahan yang akan diekstrak bersentuhan langsung dengan pelarut, yang kemudian mengalami serangkaian tahapan dinamis. Secara umum, proses ini terdiri dari tiga fase utama yaitu pertama, pelarut menembus jaringan dan merusak dinding sel, memungkinkan masuknya pelarut ke dalam sel; kedua, pelarut melarutkan senyawa metabolit yang terkandung dalam bahan; dan ketiga, campuran pelarut dan senyawa metabolit yang terlarut dikeluarkan atau dipisahkan dari biomassa. Untuk mempercepat tahapan ini, diperlukan penggilingan atau pengecilan ukuran bahan serta peningkatan suhu. Setelah ekstraksi selesai, pelarut harus dihilangkan melalui evaporasi untuk memperoleh ekstrak kasar dalam bentuk cairan pekat atau padatan.<sup>40</sup>

Metode UAE merupakan teknik ekstraksi yang sederhana, ekonomis, dan efektif dibandingkan metode konvensional. Proses ekstraksi ini dilakukan dengan memasukkan bahan atau sampel ke dalam labu Erlenmeyer yang telah berisi pelarut yang sesuai, kemudian ditempatkan

dalam *water bath* ultrasonik, yang di bagian bawahnya terdapat penghasil gelombang suara ultrasonik. Gelombang ini menciptakan efek kavitasi, yaitu pergerakan gelembung vakum kecil dalam cairan yang meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam bahan tanaman mentah, sehingga ekstraksi menjadi lebih efisien. Selain itu, getaran dengan frekuensi tinggi yang dihasilkan menciptakan tekanan mekanis pada sel dan jaringan, menyebabkan dinding sel terbuka, sehingga senyawa metabolit lebih mudah larut dalam pelarut. Proses ini mempercepat pelepasan senyawa aktif dan meningkatkan rendemen ekstrak, menjadikan UAE sebagai metode ekstraksi yang lebih cepat, dan efisien.<sup>15,40</sup>

## 2.4. Luka Eksisi

### 2.4.1. Definisi

Luka insisi dan luka eksisi adalah dua model utama yang digunakan dalam penelitian penyembuhan luka. Luka insisi dihasilkan dari sayatan linier dan sering dipakai untuk mengevaluasi bahan jahitan bedah, kekuatan tarik jaringan, serta pembentukan jaringan parut dalam jangka panjang. Model ini dapat mengalami penutupan primer (dengan jahitan langsung) atau penutupan sekunder (tanpa jahitan), yang berguna untuk mempelajari pembentukan skar lebih lanjut. Hewan seperti tikus, kelinci, dan babi

sering digunakan dalam model ini, dengan pengukuran utama yang melibatkan tensiometri dan analisis stres mekanik.<sup>14</sup>

Luka eksisi melibatkan pengangkatan seluruh lapisan kulit, yang lebih menyerupai luka klinis akut dengan penyembuhan melalui *secondary intention healing*. Model ini memungkinkan penelitian terhadap proses perdarahan, inflamasi, granulasi, angiogenesis, dan remodeling jaringan. Proses penyembuhan dapat dianalisis melalui fotografi untuk mengukur laju penutupan luka, serta analisis histologi dan biokimia untuk menilai epitelisasi, komposisi matriks, dan organisasi kolagen. Meskipun sederhana, model ini efektif karena area luka yang mudah diakses untuk pengujian berbagai agen terapi topikal.<sup>14</sup>

#### **2.4.2. Penyembuhan Luka**

Penyembuhan luka merupakan proses biologis yang kompleks, yang melibatkan interaksi dinamis antara sel, sitokin, dan faktor pertumbuhan yang bekerja bersama untuk memulihkan integritas jaringan. Proses penyembuhan luka terbagi menjadi empat fase utama yaitu fase haemostasis (menit ke 0-10), fase inflamasi (hari ke 0-5), fase proliferasi (hari ke 3-21), dan fase maturasi (hari ke 21-1 tahun).<sup>2-5</sup>

#### a) Fase Haemostasis (Menit ke 0-10)

Trombosit membentuk bekuan darah untuk menutupi luka dan menciptakan matriks sementara yang memungkinkan migrasi sel inflamasi. Pembuluh darah yang rusak mengalami vasokonstriksi sementara, kemudian vasodilatasi untuk meningkatkan aliran darah ke area luka. Vasokonstriksi pembuluh darah menyebabkan hipoksia yang kemudian merangsang produksi ROS seperti superoksida, yang berperan dalam aktivasi trombosit serta pelepasan sitokin seperti TGF- $\beta$  dan VEGF.<sup>5,30</sup>

#### b) Fase Inflamasi (Hari ke 0-5)

Setelah haemostasis tercapai, neutrofil dan makrofag bermigrasi ke area luka untuk mengatasi bakteri dan debris melalui fagositosis. Neutrofil menghasilkan ROS untuk melawan patogen dan mendukung pelepasan sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-6. ROS dikontrol oleh SOD dengan mengubah superoksida menjadi hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), yang selanjutnya didegradasi oleh enzim katalase untuk mengurangi risiko stres oksidatif. Hal ini menjaga ROS pada kadar yang mendukung inflamasi tanpa merusak jaringan sehat. Pada hari ke-3, monosit berdiferensiasi menjadi makrofag M2 yang mulai

menghasilkan sitokin antiinflamasi (IL-10, IL-4) dan faktor pertumbuhan seperti VEGF untuk mendukung fase proliferasi.<sup>5,30</sup>

**c) Fase Proliferasi (Hari ke 3-21)**

Neoangiogenesis dipengaruhi oleh ROS seperti hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), yang berperan sebagai sinyal dalam pembentukan pembuluh darah baru.  $H_2O_2$  merangsang makrofag dan fibroblast untuk menghasilkan VEGF, faktor utama dalam angiogenesis yang mendukung suplai oksigen dan nutrisi ke area luka. Seiring proses ini, fibroblast juga berkontribusi dalam pembentukan matriks ekstraseluler dengan menghasilkan kolagen tipe III untuk mengisi celah luka, sementara sel endotel membantu migrasi keratinosit dalam proses re-epitelisasi guna menutup luka. ROS dalam kadar rendah memiliki peran penting dalam remodelasi matriks dan mendukung migrasi keratinosit ke area luka. Namun, keseimbangan ROS harus dijaga agar tidak menghambat regenerasi jaringan. Dalam hal ini, SOD berperan mengontrol kadar ROS selama angiogenesis dan migrasi sel, memastikan proses penyembuhan berlangsung optimal tanpa menyebabkan stres oksidatif yang berlebihan.<sup>5,30</sup>

**d) Fase Pematangan (Hari ke 21-1 tahun)**

Myofibroblast berperan dalam mengecilkan luka dengan menarik tepiannya, mempercepat proses penyembuhan. Seiring

waktu, kolagen tipe III yang lebih lemah digantikan oleh kolagen tipe I yang lebih kuat, sehingga jaringan luka menjadi lebih stabil dan tahan terhadap tekanan mekanis.<sup>5,30</sup>

#### 2.4.3. Patomekanisme Penyembuhan Luka Eksisi secara Molekuler

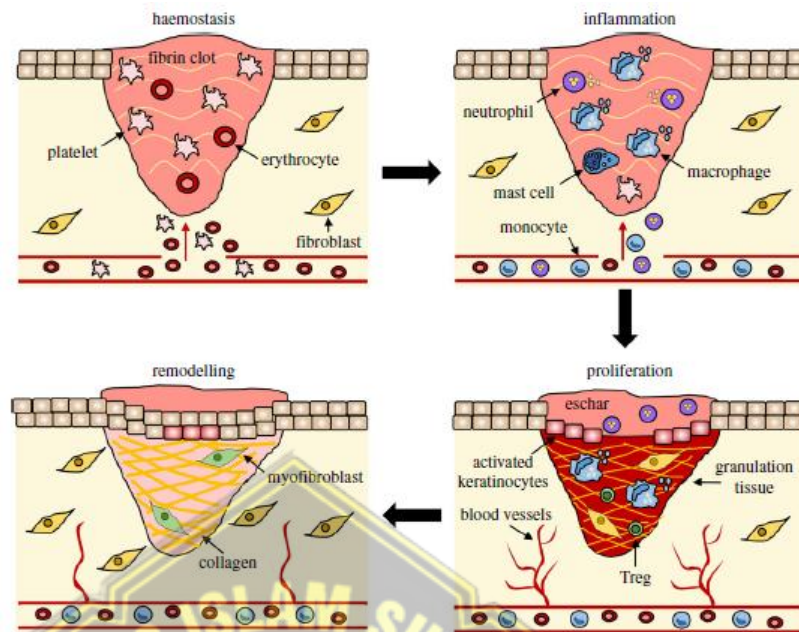
Penyembuhan luka secara biomolekuler terdiri dari empat fase utama, yaitu haemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling. Fase haemostasis dimulai segera setelah luka terjadi dengan pembentukan sumbatan platelet dan bekuan darah melalui agregasi trombosit yang melepaskan faktor pertumbuhan seperti TGF- $\beta$ , PDGF, EGF, dan VEGF untuk memicu proses perbaikan. Fibrin yang terbentuk juga menjadi matriks awal tempat sel-sel bermigrasi untuk memulai penyembuhan.<sup>5,9</sup>

Selanjutnya, fase inflamasi terjadi dengan masuknya neutrofil yang bermigrasi ke luka untuk melakukan fagositosis debris dan patogen, serta melepaskan sitokin proinflamasi (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) yang mengaktifkan jalur sinyal inflamasi seperti NF- $\kappa$ B dan MAPK, serta menghasilkan ROS melalui respiratory burst. Setelah beberapa hari, neutrofil mengalami apoptosis dan digantikan oleh makrofag fenotip M2 yang mengeluarkan sitokin antiinflamasi (IL-4, IL-10, IL-13) untuk menginisiasi fase reparasi.<sup>5,9</sup>

Pada fase proliferasi, keratinosit dari tepi luka melakukan proliferasi dan migrasi untuk menutup luka melalui re-epitelialisasi,

VEGF dan FGF-2 merangsang pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis), dan fibroblas menggantikan bekuan fibrin dengan matriks ekstraseluler awal berupa kolagen tipe III yang membentuk jaringan granulasi. Makrofag dan sel T regulator juga mendukung proses ini dengan menjaga keseimbangan imun dan mendorong regenerasi jaringan.<sup>5,9</sup>

Fase remodeling ditandai dengan penggantian kolagen tipe III oleh kolagen tipe I yang lebih kuat dan tahan terhadap stres mekanik, dikendalikan oleh aktivitas MMP-1 dan TIMP. Pembuluh darah yang terbentuk menyusut dan distabilkan oleh angiopoietin-1, sementara myofibroblas yang mengandung  $\alpha$ -SMA menyebabkan kontraksi luka. Selain itu, enzim antioksidan seperti SOD, CAT, dan GPX mengontrol ROS berlebih untuk melindungi jaringan yang sedang memperbaiki diri. Apabila terjadi gangguan regulasi, seperti peningkatan TNF- $\alpha$  yang berkepanjangan, proses inflamasi dapat berlangsung kronis, sehingga meningkatkan risiko terbentuknya luka kronis yang sulit sembuh.<sup>5,9</sup>



**Gambar 2.7** Tahapan penyembuhan luka dan komponen seluler utamanya.<sup>3</sup>

## 2.4.4. Faktor yang Mempengaruhi Penyembuhan Luka

### 2.4.4.1. Usia

Pada kulit yang menua, terjadi perubahan struktural berupa penipisan epidermis dan *dermo-epidermal junction*, serta fragmentasi kolagen tipe I dan elastin. Perubahan ini mengakibatkan berkurangnya kekuatan dan elastisitas jaringan kulit, sehingga meningkatkan kerentanan terhadap cedera mekanik dan trauma. Selain itu, jumlah dan aktivitas fibroblas menurun, menyebabkan penurunan sintesis matriks ekstraseluler (ECM) seperti kolagen dan proteoglikan, yang memperlambat pembentukan jaringan granulasi. Sel fibroblas

dan makrofag pada kulit tua menjadi sel-sel senescence, yang ditandai dengan berhentinya proliferasi dan keluarnya *senescence-associated secretory phenotype* (SASP) yang memicu inflamasi kronis serta degradasi jaringan. Gangguan pada respon imun juga terjadi, dimana jumlah dan fungsi *dendritic epidermal T cells* dan sel imun lainnya menurun, sehingga kemampuan mengendalikan inflamasi dan mempercepat proses penyembuhan ikut menurun. Selain itu, kemampuan angiogenesis menurun akibat melemahnya respons terhadap faktor pertumbuhan seperti VEGF dan mekanisme yang diatur oleh HIF-1 $\alpha$ , sehingga pembentukan pembuluh darah baru menjadi kurang optimal. Perubahan mikroenvironment kulit yang meliputi penurunan hidrasi dan daya tahan mekanik juga berkontribusi pada peningkatan kerentanan luka dan menghambat proses reparasi.<sup>3</sup>

#### 2.4.4.2. Diabetes

Diabetes menyebabkan hiperglikemia yang memicu pembentukan *advanced glycation end-products* (AGEs) yang berikatan dengan reseptor RAGE pada sel kulit dan sel imun. Ikatan ini meningkatkan produksi ROS dan memicu peradangan kronis. Fungsi sel imun seperti neutrofil dan makrofag pada pasien diabetes juga terganggu, dengan

penurunan kemampuan fagositosis, penghapusan sel mati (*efferocytosis*) yang tidak efektif, serta kesulitan beralih ke fenotip antiinflamasi (M2). Kondisi ini memperpanjang fase inflamasi dan memperlambat transisi ke fase proliferasi.<sup>3</sup>

Diabetes juga menghambat ekspresi faktor penting angiogenesis seperti HIF-1 $\alpha$ , VEGF, dan *stromal-derived factor 1* (SDF-1), sehingga perekrutan sel progenitor endotel dan pembentukan pembuluh darah baru terhambat, menyebabkan suplai oksigen dan nutrisi ke luka berkurang. Perubahan vaskular dan neuropati perifer pada diabetes menyebabkan perfusi jaringan buruk dan berkurangnya sensasi pelindung, meningkatkan risiko cedera dan infeksi luka. Fibroblas pada luka diabetik menunjukkan peningkatan sel senescence dan resistensi terhadap stimulasi faktor pertumbuhan seperti TGF- $\beta$ , sehingga produksi dan remodeling ECM menjadi terhambat. Selain itu, luka diabetik lebih rentan mengalami infeksi kronis, sehingga membentuk biofilm bakteri yang mempertahankan inflamasi dan menghambat proses penyembuhan.<sup>3</sup>

#### **2.4.4.3.Obesitas, Oksigen, dan Hipoksia**

Obesitas merupakan penyakit kronis yang disebabkan oleh berbagai faktor, termasuk kurangnya aktivitas fisik, pola

makan yang buruk, maupun predisposisi genetik. Salah satu mekanisme utama gangguan penyembuhan luka pada obesitas adalah hipoperfusi jaringan akibat kelebihan massa tubuh, yang menyebabkan perubahan molekuler terkait hipoksia dan iskemia pada proses perbaikan jaringan.<sup>41</sup>

Hipoksia akut pada luka sebenarnya dapat merangsang proses penyembuhan awal, tetapi hipoksia kronis justru dapat memperlambat penyembuhan luka melalui pelepasan sitokin dan faktor pertumbuhan secara berlebihan (seperti PDGF, TGF- $\beta$ , VEGF, TNF- $\alpha$ ) dari sel-sel di jaringan luka serta menyebabkan produksi berlebih spesies oksigen reaktif (ROS). Faktor inflamasi dan proliferasi ini sangat penting untuk penyembuhan luka yang tepat, dan gangguan pada proses ini menyebabkan luka sulit sembuh yang umum terjadi pada penderita obesitas.<sup>41</sup>

Salah satu mediator utama perubahan molekuler sebagai respons terhadap hipoksia adalah faktor induksi hipoksia-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ). HIF-1 $\alpha$  meningkat sebagai respons terhadap iskemia dengan banyak efek lanjutan. Namun pada luka kronis, kadar HIF-1 $\alpha$  dapat menurun sehingga gagal meningkatkan transkripsi VEGF atau mempercepat metabolisme anaerobik.<sup>41</sup>

#### 2.4.4.4.Epigenetik

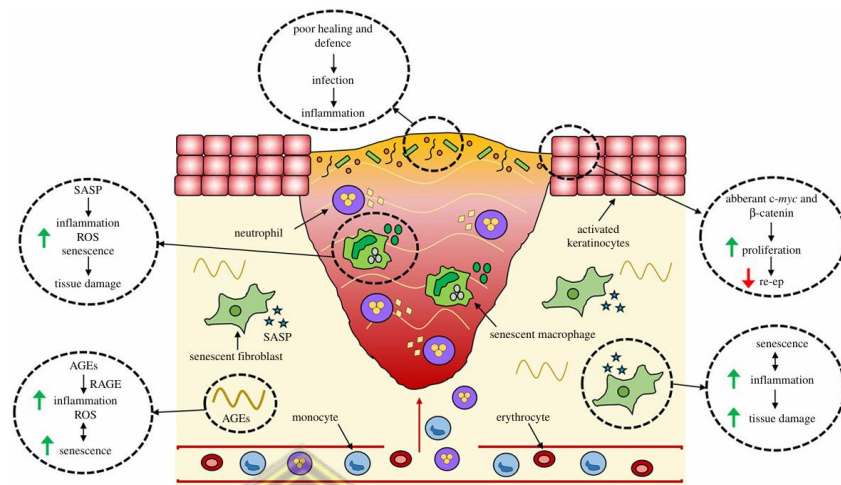
Epigenetik mengatur ekspresi gen tanpa mengubah DNA melalui mekanisme reversibel seperti metilasi DNA, modifikasi histon, dan regulasi RNA non-koding (miRNA). DNA metilasi yang dikontrol oleh enzim DNMT biasanya menekan gen, misalnya DNMT3b menekan gen PPAR $\gamma$  yang mengatur polarisasi makrofag M2, sehingga metilasi berlebih menghambat peralihan M1 ke M2. Penghambatan DNMT dapat mendorong polarisasi M2.<sup>42,43</sup>

Modifikasi histon seperti asetilasi oleh HAT membuka kromatin dan mengaktifkan gen, sedangkan deasetilasi oleh HDAC3 menutup kromatin dan mendukung fenotip M1; penghambatan HDAC3 merangsang fenotip M2. Histon metiltransferase (SMYD3, PRMT1) dan demetilase JMJD3 juga mengatur ekspresi gen M2. RNA non-koding (miRNA, lncRNA, circRNA) mengontrol ekspresi gen dengan menarget mRNA dan merekrut enzim epigenetik, misalnya miR-155 mendukung fenotip M1, sedangkan lncRNA NEAT1 dan circRNA nhg11 mendorong M2.<sup>42,43</sup>

Pada fase inflamasi, enzim seperti JMJD3 mengatur faktor inflamasi dan sitokin. Pada fase proliferasi, hipometilasi mendukung proliferasi keratinosit dan stem cell folikel rambut. Pada fase remodeling, metilasi dan modifikasi

histon mengatur diferensiasi fibroblas dan angiogenesis, serta migrasi sel melalui jalur Notch1 dan MMP.<sup>42,43</sup>

Epigenetik dan regulasi molekuler yang mendukung penyembuhan luka normal dapat terganggu pada kondisi luka kronis, yang ditandai oleh persistensi inflamasi dan disfungsi seluler. Luka kronis sering terkontaminasi bakteri yang memperparah inflamasi. Keratinosit di luka ini mengalami aktivasi abnormal, menyebabkan pertumbuhan berlebihan namun migrasi terganggu. Sel seperti makrofag dan fibroblas menjadi sel senescence dan mengeluarkan SASP, yang meningkatkan inflamasi dan produksi ROS. Tingginya produk glikasi lanjutan (AGEs) juga memperburuk inflamasi dan sel senescence. Semua faktor ini menyebabkan kerusakan jaringan berlebih dan menghambat fungsi sel yang penting untuk penyembuhan, termasuk re-epitelialisasi. Faktor-faktor yang berperan dalam proses penyembuhan luka kronis ditampilkan pada gambar 2.8.<sup>3</sup>



**Gambar 2.8** Faktor-faktor yang berkontribusi pada penyembuhan luka kronis.<sup>3</sup>

## 2.5. Tikus Wistar

Model hewan digunakan untuk memahami proses seluler dan biokimia dalam penyembuhan luka serta menguji efektivitas dan keamanan terapi potensial. Tantangan utama dalam penelitian translasional adalah keterbatasan model praklinis yang dapat mereplikasi luka manusia secara akurat. Model hewan coba yang dipilih harus memiliki reproduksibilitas tinggi, memungkinkan analisis kuantitatif, relevan secara klinis, dan dapat diterapkan dalam praktik medis.<sup>44</sup>

Tikus memiliki kulit longgar, sehingga penyembuhan lukanya lebih banyak bergantung pada kontraksi dibandingkan re-epitelisasi, yang mempercepat proses karena tidak membentuk jaringan baru. Tidak seperti manusia, tikus tidak mengalami jaringan parut hipertrofik atau keloid. Kolagen yang dihasilkan dalam luka mereka berasal dari otot panniculus

carnosus, yang terletak di bawah kulit. Tikus besar sering digunakan dalam penelitian luka karena ukurannya memungkinkan studi yang lebih luas, ketersediaannya tinggi, dan mudah ditangani.<sup>44</sup> Meskipun terdapat perbedaan yang jelas antara manusia dan hewan, kesamaan struktural antara jaringan kulit manusia dan tikus serta berbagai faktor praktis lainnya, menjadikan tikus sebagai model yang sesuai untuk mempelajari proses patofisiologi kulit, termasuk penyembuhan luka dan permeasi obat.<sup>45</sup>

Tikus dengan kelompok genus *Rattus*, spesies *Rattus norvegicus* memiliki berbagai jenis strain, antara lain tikus (*Rattus norvegicus*) strain Wistar, tikus (*Rattus norvegicus*) strain Sprague Dawley, dan tikus strain Long-Evans. Tikus strain Wistar ini berasal dari perkawinan tikus Wistar dengan tikus jantan liar Norwegia yang ditangkap di Berkeley, California, kemudian oleh para ahli Institut Wistar dikembangkan pada tahun 1906 agar didapatkan standarisasi produksi tikus albino Strain wistar yang dapat digunakan untuk penelitian. Tikus Wistar melewati berbagai seleksi keturunan dan perkawinan silang yang akhirnya berkembang menjadi strain yang stabil genetiknya, sehingga dapat diandalkan dalam penelitian ilmiah. Tikus strain Wistar dipilih dalam penelitian ini karena memiliki bentuk dan ukuran tubuh yang lebih sesuai dibanding dengan tikus strain lainnya untuk tikus laboratorium. Tikus Wistar memiliki ukuran tubuh sedang sampai besar dengan berat badan 100-227 gram.<sup>21</sup>



**Gambar 2.9** Tikus (*Rattus norvegicus*) strain Wistar<sup>21</sup>

## 2.6. *Povidone Iodine*

*Povidone iodine* dipilih sebagai kontrol positif dalam studi penyembuhan luka ini karena kemampuannya sebagai antiseptik yang efektif membunuh bakteri gram-positif maupun gram-negatif yang dapat menghambat proses penyembuhan luka. Sediaan yang dipilih berupa salep *povidone iodine* 10%. Salep ini bekerja dengan cara melepaskan iodine bebas yang mengoksidasi protein dan struktur sel mikroba, sehingga mengurangi risiko infeksi yang dapat memperlambat proses regenerasi jaringan. Selain itu, penelitian menunjukkan bahwa *povidone iodine* mampu meningkatkan kepadatan kolagen dalam jaringan luka, yang berperan dalam stabilisasi dan pemulihan struktur jaringan selama proses penyembuhan. Karena efektivitasnya yang telah teruji secara luas dalam penelitian klinis dan eksperimental, *povidone iodine* sering digunakan sebagai standar perawatan luka dan menjadi kontrol positif dalam studi yang membandingkan agen penyembuhan lainnya.<sup>46,47</sup>

## **BAB III**

### **KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS**

#### **3.1. Kerangka Teori**

Proses penyembuhan luka adalah mekanisme kompleks yang melibatkan beberapa tahap penting untuk mengembalikan integritas jaringan setelah cedera. Proses ini meliputi serangkaian respons yang terkoordinasi, termasuk haemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling.<sup>2-5</sup> Setelah cedera, tubuh mengalami hipoksia (penurunan kadar oksigen dalam jaringan) akibat gangguan pembuluh darah dan vasokonstriksi di area luka. Hipoksia ini mengaktifkan berbagai jalur sinyal yang meningkatkan produksi ROS dan merangsang respons inflamasi segera, ditandai peningkatan jumlah neutrofil dan jumlah makrofag. Sel-sel ini melepaskan ROS, seperti superoksida, yang dapat memberikan efek baik maupun merugikan pada jaringan. ROS memainkan peran penting dalam fase inflamasi, membantu dalam pertahanan terhadap patogen dan memberikan sinyal untuk perbaikan jaringan.<sup>5,30</sup> Kondisi hipoksia juga memicu produksi antioksidan enzimatis salah satunya SOD.<sup>48</sup>

Pada fase inflamasi (hari ke 0-5), tubuh berusaha untuk membersihkan debris dan mencegah infeksi. Kehadiran ROS, neutrofil, dan makrofag yang teraktivasi, membantu untuk menghilangkan patogen dan sel yang rusak, namun ketidakseimbangan produksi ROS dapat menyebabkan stres

oksidatif, yang mengganggu proses penyembuhan dan dapat menyebabkan peradangan kronis.<sup>30</sup> Jalur NF- $\kappa$ B dan MAPK berperan, mengatur ekspresi sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$  dan IL-1, yang penting untuk migrasi sel imun ke lokasi luka.<sup>5,30</sup> Polarisasi makrofag memainkan peran kunci dalam penyembuhan luka. Pada awal terbentuknya luka, makrofag pertama-tama terpolarisasi menjadi fenotipe M1, yang bersifat proinflamasi dan melepaskan sitokin seperti TNF- $\alpha$  dan IL-1, yang penting untuk tahap awal penyembuhan. Sitokin-sitokin ini membantu merekrut sel-sel imun lain ke lokasi luka untuk melawan infeksi dan membersihkan debris. Aktivasi M1 yang berkepanjangan dapat mengarah pada peradangan kronis dan memperlambat penyembuhan luka.<sup>5</sup> Untuk beralih ke fase proliferasi, makrofag perlu berpolarisasi menjadi fenotipe M2, yang bersifat antiinflamasi dan mendukung perbaikan jaringan dengan mempromosikan sintesis kolagen dan re-epitelialisasi. Transisi ini sangat penting untuk penyembuhan luka yang tepat. ROS berperan penting dalam memodulasi polarisasi makrofag. Produksi ROS dari makrofag M1 diperlukan untuk memulai respons inflamasi, kelebihan ROS dapat menghambat polarisasi menuju makrofag M2, memperlambat perbaikan jaringan dan mempromosikan peradangan kronis.<sup>9,30</sup>

Berbagai faktor sistemik memengaruhi proses penyembuhan luka, termasuk usia lanjut, diabetes, obesitas, dan regulasi epigenetik. Proses penuaan menyebabkan atrofi kulit, yaitu penipisan lapisan dermis yang disertai berkurangnya komponen matriks ekstraseluler seperti kolagen dan

elastin. Kulit yang menua juga menunjukkan penurunan hidrasi dan disfungsi barrier kulit, sehingga lebih rentan terhadap cedera. Secara seluler, terjadi peningkatan sel senescence pada fibroblas dan makrofag, yaitu keadaan sel berhenti membelah tetapi aktif mengeluarkan *senescence-associated secretory phenotype* (SASP) yang memicu inflamasi kronis. Penuaan juga menurunkan jumlah dan fungsi sel imun, seperti *dendritic epidermal T cells*, yang berperan penting dalam kontrol inflamasi awal. Kombinasi dari gangguan struktur, inflamasi kronis, dan disfungsi imun ini menghambat proses penyembuhan luka dan meningkatkan risiko pembentukan luka kronik pada individu lansia.<sup>3,39,42</sup>

Kondisi hiperglikemia kronis memicu pembentukan *advanced glycation end-products* (AGEs) yang berikatan dengan reseptor RAGE di berbagai sel, termasuk fibroblas dan makrofag. Aktivasi RAGE oleh AGEs meningkatkan produksi ROS dan peradangan kronis. Diabetes juga menyebabkan disfungsi sel imun, termasuk gangguan fagositosis oleh neutrofil, kegagalan *efferocytosis*, dan hambatan transisi makrofag ke fenotip antiinflamasi (M2), sehingga memperpanjang fase inflamasi. Angiogenesis terganggu akibat penurunan ekspresi faktor pertumbuhan penting seperti HIF-1 $\alpha$ , VEGF, dan SDF-1. Kondisi ini menghambat pembentukan pembuluh darah baru, memperburuk hipoksia jaringan luka, dan menghambat proses reparasi. Diabetes juga menurunkan respons fibroblas terhadap TGF- $\beta$ , mempercepat pembentukan sel senescence, dan

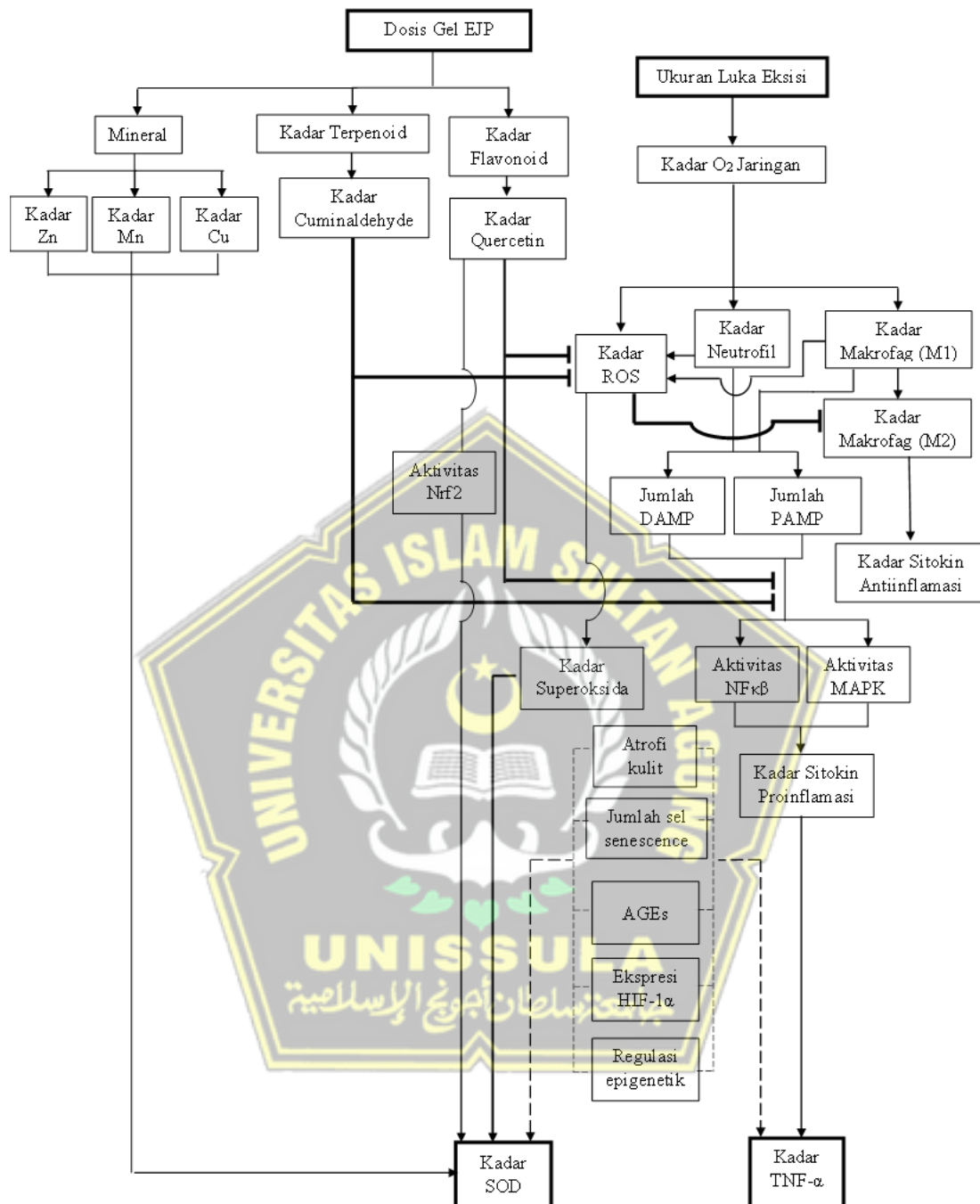
menyebabkan penurunan produksi ECM, serta memfasilitasi infeksi kronik melalui pembentukan biofilm.<sup>3</sup>

Pada obesitas, hipoksia kronis menyebabkan gangguan stabilisasi HIF-1 $\alpha$  dan menghambat respons angiogenik serta memperparah pelepasan sitokin inflamasi seperti TNF- $\alpha$  dan TGF- $\beta$ . Regulasi epigenetik melalui mekanisme metilasi DNA, modifikasi histon, dan ekspresi RNA non-koding turut menentukan ekspresi gen penyembuhan, termasuk peralihan fenotip makrofag M1 ke M2, proliferasi keratinosit, dan diferensiasi fibroblas.<sup>41,43</sup>

EJP menunjukkan potensi dalam modulasi inflamasi dan peningkatan kapasitas antioksidan selama penyembuhan luka. Senyawa bioaktif dalam jintan putih, seperti terpenoid (cuminaldehyde, limonene, thymol, eugenol), flavonoid (quercetin, luteolin, apigenin, rosmarinic acid), dan mineral (Cu, Mn, Zn), memiliki sifat antiinflamasi yang bekerja melalui penghambatan jalur NF- $\kappa$ B dan MAPK<sup>11</sup>, serta memiliki sifat antioksidan yang meningkatkan ekspresi SOD.<sup>31</sup> Cuminaldehyde telah ditemukan dapat mengurangi kadar TNF- $\alpha$  yang merupakan sitokin utama dalam aktivasi makrofag M1.<sup>5,11</sup> Efek jintan putih terhadap enzim antioksidan seperti SOD berperan dalam mengembalikan keseimbangan antara produksi ROS dan pertahanan antioksidan tubuh, mencegah akumulasi radikal bebas yang berlebihan. Keseimbangan ini mendukung polarisasi makrofag ke arah fenotipe M2, yang mendorong regenerasi jaringan, sintesis kolagen, dan transisi dari fase inflamasi menuju penyembuhan.<sup>11,30</sup> Quercetin dikenal memiliki aktivitas antiinflamasi, antiapoptosis, antikanker, dan

antihipertensi. Quercetin menghambat aktivasi jalur MAPK dan NF- $\kappa$ B, yaitu melalui penghambatan fosforilasi MEK, ERK, JNK, p38, serta I $\kappa$ B $\alpha$  dan p65. Hambatan ini mencegah translokasi p65 ke nukleus dan menurunkan ekspresi gen inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-6, dan iNOS, sehingga mengurangi produksi NO dan ROS. Quercetin juga mengaktifkan jalur NRF2-ARE, yang meningkatkan ekspresi enzim antioksidan seperti SOD, GST, HO-1, dan NQO1, serta memperkuat pertahanan redoks seluler terhadap stres oksidatif dan inflamasi kronis.<sup>38,39</sup>

Pemanfaatan formulasi gel berbasis EJP sebagai media penghantaran topikal semakin memperkuat efek terapeutiknya dalam penyembuhan luka eksisi. Gel memiliki biokompatibilitas tinggi, penetrasi lebih baik dibandingkan salep, serta memberikan efek hidrasi yang mendukung regenerasi jaringan.<sup>18,19,49</sup> Dengan formulasi gel, senyawa aktif dalam jintan putih dapat langsung bekerja di area luka, sehingga efek antiinflamasi dan antioksidan dapat lebih cepat memberikan dampak. Penggunaan etanol sebagai pelarut ekstraksi memungkinkan pemisahan senyawa bioaktif lebih optimal dan stabil tanpa menyebabkan toksisitas.<sup>16,17</sup>



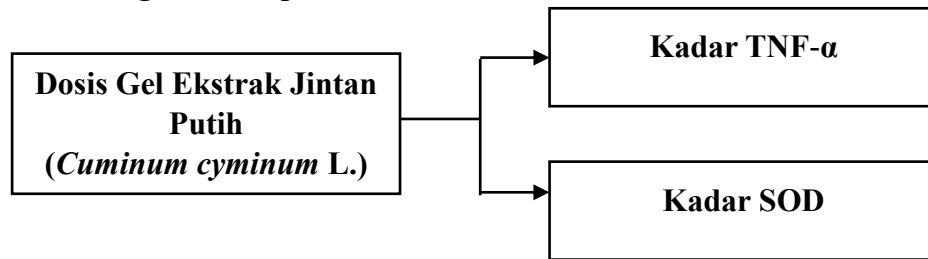
**Gambar 3.1** Kerangka Teori

Keterangan :

- | : Menghambat  
 —→ : Meningkatkan  
 - - - - -> : 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 TNF- $\alpha$  dan kadar SOD pada luka eksisi kulit tikus Wistar jantan.

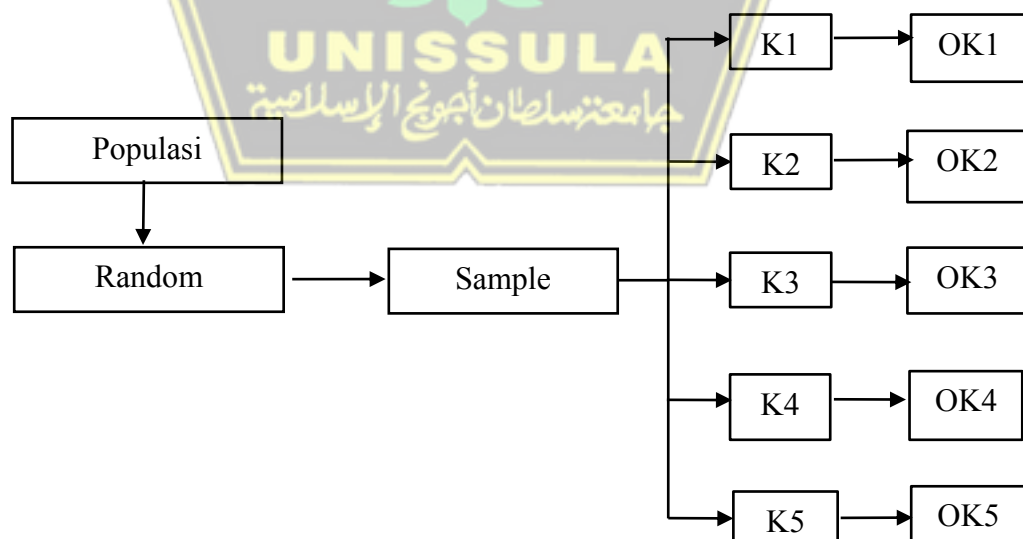


## BAB IV

### 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 EJP (*Cuminum cyminum L.*) dalam mempercepat penyembuhan luka jaringan kulit tikus jantan Wistar dengan mengukur kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD. Parameter-parameter tersebut hanya diukur setelah perlakuan (*post-test*), penelitian ini memberikan gambaran mengenai pengaruh EJP terhadap proses penyembuhan luka, serta membandingkan efek perlakuan pada kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif, dan kelompok perlakuan.



**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 gel basis (plasebo).
- K3 : Kelompok kontrol positif yaitu tikus diberi luka eksisi dengan pemberian salep *povidone iodine*.
- K4 : Kelompok perlakuan 1 yaitu tikus diberi luka eksisi dengan pemberian gel EJP (*Cuminum cyminum* L.) 10%.
- K5 : Kelompok perlakuan 2 yaitu tikus diberi luka eksisi dengan pemberian gel EJP (*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 jantan galur Wistar dewasa yakni tikus berumur 2 – 3 bulan dan mempunyai berat badan 180 – 220 g yang dinyatakan sehat dan layak digunakan untuk penelitian. Tikus Wistar jantan menjalani adaptasi selama 7

hari. Tikus ditempatkan pada kandang terpisah dengan suhu tetap dan diberi pakan normal.

**a) Kriteria Inklusi Penelitian**

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

**b) Kriteria *Drop Out***

- Tikus mengalami sakit dalam masa penelitian,
- Tikus mengalami 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 (jumlah tikus dalam satu kelompok perlakuan) dan  $t$  adalah jumlah kelompok perlakuan.<sup>50</sup>

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

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

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

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

$$n \geq 4.75$$

$$n = 5$$

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 hilangnya unit eksperimen maka dilakukan koreksi dengan rumus:  $n / 1-DO$ <sup>51</sup>, dimana proporsi unit eksperimen yang hilang atau *drop out* sebanyak 10%, maka:

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

$$n = 5 / 1-10\%$$

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

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

#### 4.2.3. Cara 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 sederhana (*simple random sampling*).

### 4.3 Variabel Penelitian

#### 4.3.1 Variabel Bebas

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

#### 4.3.2 Variabel Terikat

Kadar  $TNF-\alpha$  dan Kadar SOD jaringan kulit.

### 4.4 Definisi Operasional

#### 4.4.1 Gel Ekstrak Jintan Putih (EJP)

Gel EJP diperoleh dari ekstraksi Jintan Putih menggunakan etanol 40%, metode UAE yang selanjutnya dibuat sediaan menggunakan gel basis dengan konsentrasi 10% dan 20%. Pemberian gel EJP 10% dan 20% sebanyak 0,2mg pada kulit punggung tikus, 2 kali sehari, secara topikal, selama 5 hari.

Satuan : mg

Skala : Ordinal

#### 4.4.2 Kadar $TNF-\alpha$

Kadar  $TNF-\alpha$  dalam sampel jaringan kulit tikus Wistar jantan diukur pada hari ke-6 setelah perlakuan luka eksisi yang sudah diberi perlakuan selama 5 hari. Kadar  $TNF-\alpha$  diukur menggunakan *ELISA kit reagen Rat  $TNF-\alpha$* , metode ELISA jaringan. Indikator keberhasilan

perlakuan ditentukan berdasarkan kadar TNF- $\alpha$  kelompok perlakuan lebih rendah dari kelompok kontrol, yang menunjukkan kemampuan EJP sebagai antiinflamasi.

Satuan : ng/L

Skala : Rasio

#### 4.4.3 Kadar SOD

Kadar SOD dalam sampel jaringan kulit tikus Wistar jantan diukur pada hari ke-6 setelah perlakuan luka eksisi yang sudah diberi perlakuan selama 5 hari. Kadar SOD diukur menggunakan *ELISA kit reagen Rat SOD*, metode ELISA jaringan. Indikator keberhasilan perlakuan ditentukan berdasarkan kadar SOD kelompok perlakuan lebih tinggi dari kelompok kontrol, yang menunjukkan kemampuan EJP sebagai antioksidan.

Satuan : ng/mL

Skala : Rasio

### 4.3. Bahan dan Alat Penelitian

#### 4.3.1. Alat

- Timbangan analitik digital
- *Punch* biopsi diameter 8mm
- 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
- *ELISA Reader*
- Plester Tegaderm

#### 4.3.2. Bahan

- Tikus Wistar jantan (umur 2–3 bulan, berat badan 180–220 gram)
- Propilen glikol, gliserin, dan *DMDM hydantoin*
- Gel EJP 10%
- Gel EJP 20%
- *Povidone iodine* 10% salep
- *ELISA kit reagen Rat TNF- $\alpha$*
- *ELISA kit reagen Rat SOD*
- Larutan anestesi (Ketamin dan Xylazine)
- Alkohol 70%, kapas steril, dan peralatan desinfeksi
- Larutan NaCl fisiologis 0,9%

- Buffer fosfat (PBS)

#### 4.4. Prosedur Penelitian

##### 4.4.1. *Ethical Clearance*

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Hewan Coba di institusi terkait, dengan mempertimbangkan kesejahteraan hewan dan penerapan prinsip 3R (*Replacement, Reduction, Refinement*).

##### 4.4.2. Cara Pembuatan Ekstrak Jintan Putih

- 1) Biji jintan putih digiling menggunakan mesin penggiling hingga halus. Mesh 40-60 digunakan untuk mendapatkan partikel yang cukup halus, yang dapat mempermudah penetrasi pelarut dan mempercepat ekstraksi.
- 2) Serbuk biji jintan putih dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer.
- 3) Pelarut etanol 40% ditambahkan ke dalam labu Erlenmeyer.
- 4) Labu Erlenmeyer ditempatkan dalam *water bath* ultrasonik.
- 5) Suhu diatur pada 39°C dan waktu ekstraksi dilakukan selama 51 menit sesuai dengan kondisi optimasi.
- 6) EJP dipekatkan menggunakan *Rotary Evaporator*.

#### 4.4.3. Cara Pembuatan Gel Ekstrak Jintan Putih

- 1) EJP ditimbang sesuai konsentrasi yaitu 10% dan 20% yang masing-masing untuk setiap 100 gram total gel.
- 2) Ekstrak Jintan putih dilarutkan dalam sedikit pelarut (air suling/etanol) agar tercampur dengan mudah pada basis gel.
- 3) Gel basis dibuat dengan cara: Carbopol 940, yang ditimbang sebanyak 2% kemudian didispersikan dalam air bebas CO<sub>2</sub> 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.
- 4) Larutan ekstrak dicampurkan kedalam gel basis, kemudian diaduk hingga tercampur merata sehingga didapatkan konsentrasi yang konsisten dalam gel.
- 5) TEA (*Triethanolamine*) ditambahkan setetes demi setetes sambil diaduk untuk mengatur pH gel hingga berada dikisaran 5,5 – 6,5 (pH Kulit).
- 6) Gel dimasukkan kedalam wadah steril dan kedap udara. Kemudian disimpan pada suhu ruang/ lemari pendingin untuk menjaga kestabilan.

#### 4.4.4. Pembagian Kelompok

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

- K1 : Kelompok tikus dalam keadaan sehat tidak diberi luka eksisi.
- K2 : Kelompok kontrol negatif yaitu tikus diberi luka eksisi dengan pemberian gel basis (plasebo).
- K3 : Kelompok kontrol positif yaitu tikus diberi luka eksisi dengan pemberian salep *povidone iodine*.
- K4 : Kelompok perlakuan 1 yaitu tikus diberi luka eksisi dan diberikan gel EJP (*Cuminum cyminum* L.) 10%.
- K5 : Kelompok perlakuan 2 yaitu tikus diberi luka eksisi dan diberikan gel EJP (*Cuminum cyminum* L.) 20%.

#### 4.4.5. Persiapan Hewan Uji

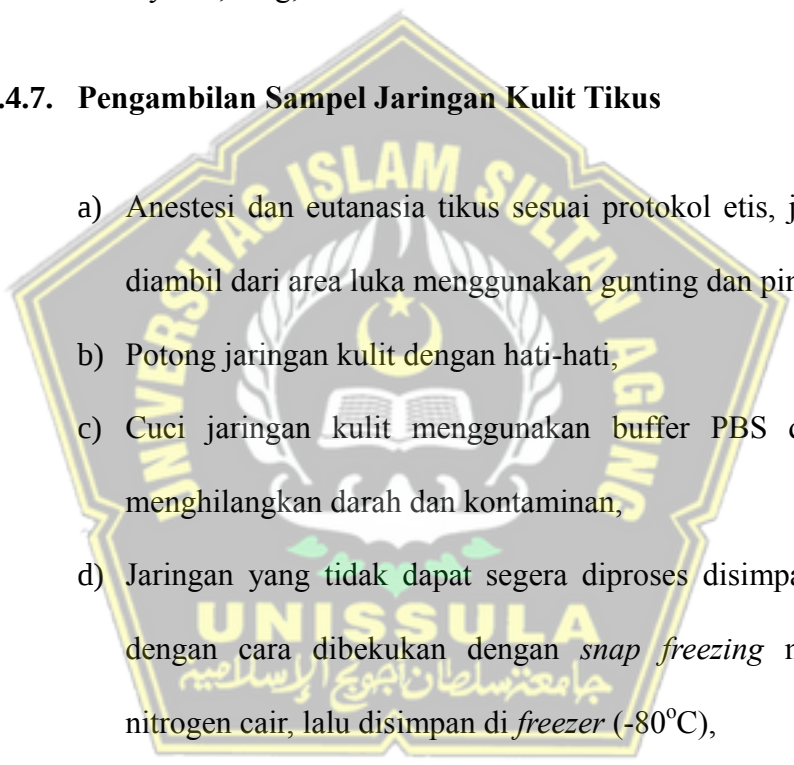
Subjek penelitian berjumlah 30 ekor tikus Jantan galur Wistar, berumur 2 – 3 bulan dan mempunyai berat badan 180 – 220 gram, yang terbagi menjadi 5 kelompok, masing-masing berjumlah 6 ekor tikus. Tikus yang sudah diadaptasi selama 7 hari, dibius dengan campuran ketamin (60mg/kgBB) dan xylazine (20mg/kgBB).<sup>52</sup> 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.<sup>14</sup> Tikus kemudian diberikan perlakuan sesuai dengan kelompoknya.

#### 4.4.6. Pemberian Terapi Topikal Gel EJP

Gel EJP diberikan pada kelompok perlakuan di area luka eksisi sebanyak 0,2 mg, 2 kali sehari selama 5 hari.

#### 4.4.7. Pengambilan Sampel Jaringan Kulit Tikus

- 
- a) Anestesi dan eutanasia 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) Jaringan yang tidak dapat segera diproses disimpan sementara dengan cara dibekukan dengan *snap freezing* menggunakan nitrogen cair, lalu disimpan di *freezer* ( $-80^{\circ}\text{C}$ ),
  - e) Jaringan di homogenisasi dengan menyiapkan buffer lisis dingin (RIPA buffer) dengan menambahkan *protease inhibitor* sesuai dosis rekomendasi produsen,
  - f) Potong jaringan menjadi potongan kecil (1-2 mm) dengan gunting steril untuk mempermudah homogeinsasi,
  - g) Potongan jaringan dimasukkan kedalam tabung *microcentrifuge* yang berisi 500 – 1000 mikroliter buffer lisis dingin,

h) Homogenisasi jaringan dengan:

- Mortar dan pestle: Nitrogen cair ditambahkan untuk menjaga suhu dingin,
- Homogenizer elektrik: Gunakan kecepatan sedang-tinggi hingga jaringan menjadi halus,

i) Inkubasi homogenat pada suhu 4°C selama 30-60 menit dengan pengocokan berkala (vortex setiap 10 menit),

j) Homogenat disentrifugasi pada 12.000-14.000 rpm selama 15-20 menit pada suhu 4°C,

k) Setelah sentrifugasi, akan terbentuk 3 lapisan:

- Supernatan (mengandung protein terlarut, termasuk TNF- $\alpha$  dan SOD),
- Lapisan tengah (debris jaringan),
- Pelet (material tidak larut),

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

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

#### 4.4.8. Analisis Kadar TNF- $\alpha$ dan Kadar SOD dengan Metode ELISA

Sampel jaringan kulit yang diperoleh kemudian dianalisis kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD menggunakan metode ELISA,

mengikuti prosedur yang dilampirkan dalam produk menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 450 nm. Tahapan pemeriksaan sebagai berikut:

a) Pembuatan standar

- Sepuluh sumuran pada *microplate* disiapkan,
- 100  $\mu$ L cairan standar dan 50  $\mu$ L diluent standar dicampur ke sumuran 1 dan 2 (campuran 1),
- 100  $\mu$ L campuran 1 dan 50  $\mu$ L diluent standar dicampur ke sumuran 3 dan 4 (campuran 2),
- 100  $\mu$ L campuran 2 dan 50  $\mu$ L diluent standar dicampur ke sumuran 5 dan 6 (campuran 3),
- 100  $\mu$ L campuran 3 dan 50  $\mu$ L diluent standar dicampur ke sumuran 7 dan 8 (campuran 4).

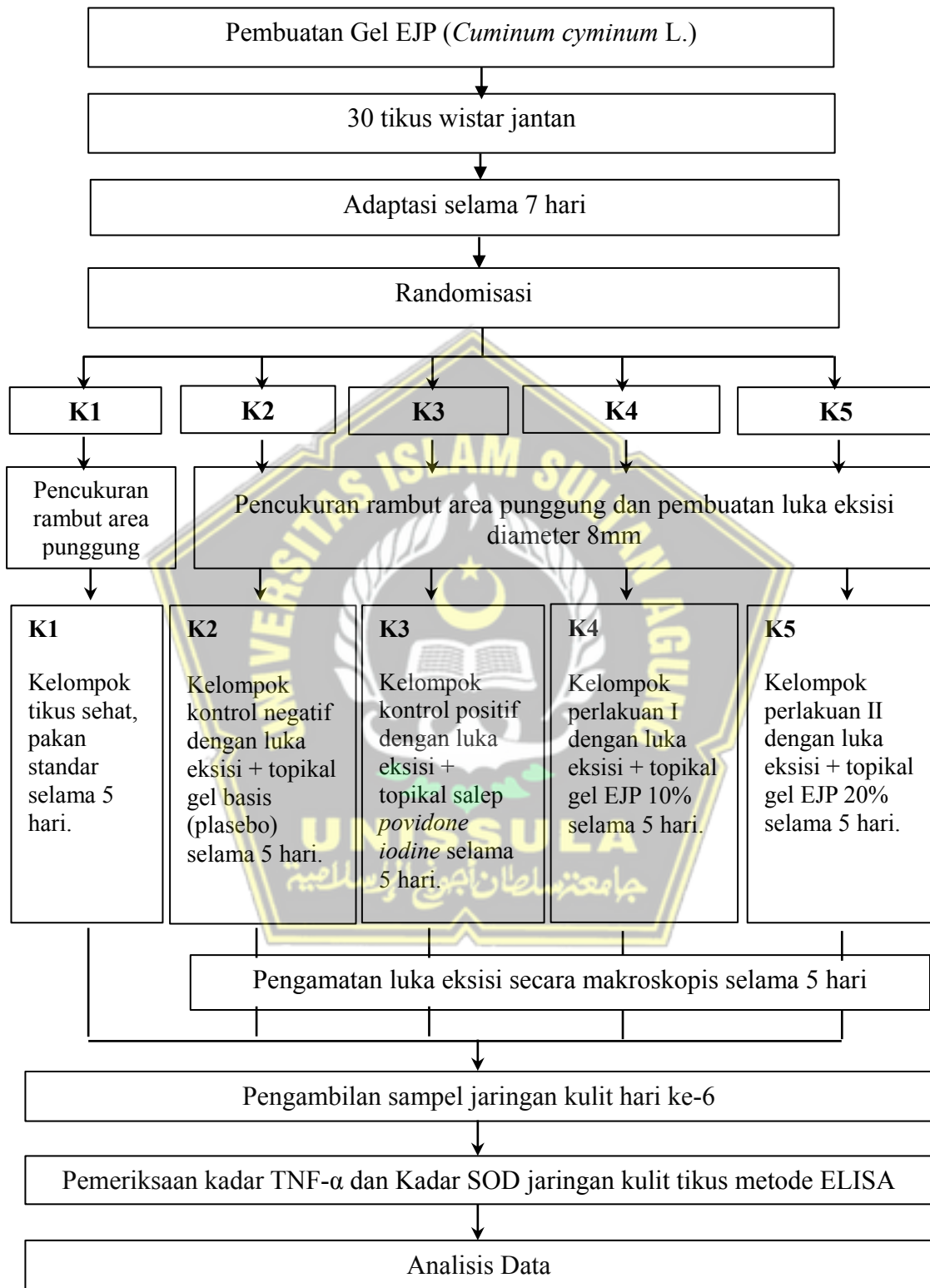
b) Antibodi ditambahkan dan inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C, larutan pencuci dan aquadest dicampurkan sebanyak tiga puluh kali, dan cuci sumuran sebanyak lima kali dengan larutan pencuci yang telah disiapkan.

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  $\mu$ L ke tiap sumuran, inkubasi selama 120 menit pada suhu ruangan.

- e) Antibodi pada tiap sumuran ditambahkan sebanyak 100  $\mu$ L *biotinylated antibody* pada tiap sumuran.
- f) 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  $\mu$ L *ABC Solution* pada tiap sumuran lalu inkubasi selama 30 menit dengan suhu 37°C.
- g) *HRP-Conjugate* dan TMB ditambahkan masing-masing sebanyak 100  $\mu$ L pada tiap sumuran dan inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C.
- h) Larutan *stop solution* ditambahkan sebanyak 100  $\mu$ L pada tiap sumuran sampai terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning.
- i) Pembacaan nilai OD (*Optical Density*) pada panjang gelombang 450 nm pada alat *ELISA reader* dan didapatkan hasil kadar TNF- $\alpha$  dan SOD.

#### 4.5. Alur Penelitian



**Gambar 4.2** Alur Penelitian

#### 4.6. Analisis Data

Data yang sudah didapat, diproses, disunting, ditabulasi, dan dibersihkan, kemudian dilakukan uji deskriptif. Kemudian dilakukan uji normalitas data dengan uji *Shapiro Wilk* dan uji varian data dengan uji *Levene*. Data menunjukkan sebaran data yang normal dan varian data homogen sehingga dilakukan uji beda dengan uji *One Way Anova* dimana  $p\text{-value} < 0,05$  maka rata-rata ada perbedaan dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok. Perbedaan antar kelompok dianalisis lebih lanjut menggunakan uji *Post Hoc LSD (Least Significant Difference)*. Pengolahan analisis data dilakukan dengan menggunakan SPSS for Windows.

#### 4.7. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei hingga Juli 2025 di tiga lokasi utama, yaitu:

1. Laboratorium Terpadu IBL (*Integrated Biomedical Laboratory*), Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA), Semarang.

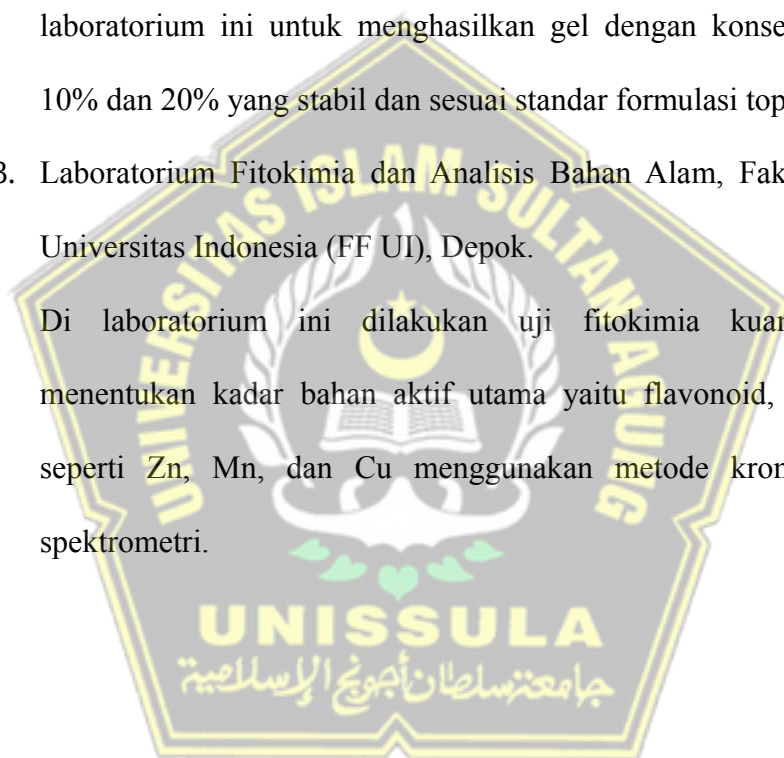
Kegiatan yang dilakukan di laboratorium ini meliputi proses adaptasi tikus Wistar, pembuatan model luka eksisi, pemberian perlakuan gel ekstrak jintan putih secara topikal, serta pengambilan sampel jaringan kulit. Analisis kadar TNF- $\alpha$  dan SOD dilakukan menggunakan metode ELISA di laboratorium ini.

2. Laboratorium Formulasi dan Teknologi Sediaan, Fakultas Farmasi Universitas Islam Sultan Agung (FF UNISSULA), Semarang.

Proses pembuatan ekstrak jintan putih dilakukan menggunakan metode ekstraksi ultrasonik (*Ultrasonic-Assisted Extraction/ UAE*) dengan pelarut etanol:air (4:6), dilanjutkan dengan proses formulasi sediaan gel topikal. Pengembangan dan penyesuaian konsentrasi dilakukan pada laboratorium ini untuk menghasilkan gel dengan konsentrasi ekstrak 10% dan 20% yang stabil dan sesuai standar formulasi topikal

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

Di laboratorium ini dilakukan uji fitokimia kuantitatif untuk menentukan kadar bahan aktif utama yaitu flavonoid, serta mineral seperti Zn, Mn, dan Cu menggunakan metode kromatografi dan spektrometri.



## BAB V

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 5.1. Hasil Penelitian

Analisis terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD pada jaringan kulit tikus Wistar pasca luka eksisi dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian gel ekstrak jintan putih (*Cuminum cyminum* L.) secara eksperimental *in vivo*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-Juli 2025 di tiga lokasi, yaitu Laboratorium Terpadu IBL (*Integrated Biomedical Laboratory*) Fakultas Kedokteran (FK) UNISSULA Semarang, Laboratorium Formulasi dan Teknologi Sediaan Fakultas Farmasi (FF) UNISSULA Semarang, dan Laboratorium Fitokimia dan Analisis Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Indonesia (FF UI) Depok.

Penelitian ini menggunakan total 30 ekor tikus jantan galur Wistar berumur 2–3 bulan dengan berat badan antara 180–220 gram. Tikus-tikus tersebut dibagi secara acak ke dalam lima kelompok perlakuan, masing-masing terdiri atas enam ekor tikus. Namun, hanya lima ekor tikus dari setiap kelompok yang dianalisis datanya, sedangkan satu ekor lainnya disiapkan sebagai sampel cadangan. Jumlah minimal lima ekor tikus per kelompok ini mengacu pada rumus Federer, yang hasil perhitungannya menyatakan bahwa setiap kelompok perlakuan sebaiknya terdiri dari minimal lima subjek uji. Kelompok penelitian terdiri dari:

- K1: Kelompok kontrol sehat, yaitu tikus tanpa perlakuan luka eksisi.

- K2: Kelompok kontrol negatif, yaitu tikus model luka eksisi yang diberi gel basis tanpa bahan aktif.
- K3: Kelompok kontrol positif, yaitu tikus model luka eksisi yang diberi salep *povidone iodine*.
- K4: Kelompok perlakuan 1, yaitu tikus model luka eksisi yang diberi sediaan gel ekstrak jintan putih konsentrasi 10%.
- K5: Kelompok perlakuan 2, yaitu tikus model luka eksisi yang diberi sediaan gel ekstrak jintan putih konsentrasi 20%.

Pengambilan jaringan kulit dilakukan pada hari ke-6 setelah perlakuan, kemudian kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD dianalisis menggunakan metode ELISA dengan pembacaan *Optical Density* (OD) pada panjang gelombang 450 nm.

#### 5.1.1. Hasil Uji Standarisasi Ekstrak Jintan Putih

Uji standarisasi dilakukan untuk menentukan kualitas ekstrak etanol dari biji jintan putih (*Cuminum cyminum* L.) yang digunakan dalam penelitian ini. Uji standarisasi bertujuan untuk memastikan bahwa ekstrak yang digunakan memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan, baik dari segi kandungan zat aktif maupun komponen lain yang dapat mempengaruhi kualitas dan keamanan sediaan.

Berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan pada 30 Juni – 4 Juli 2025 di Laboratorium FF UNISSULA Semarang, hasil yang diperoleh ditunjukkan pada tabel 5.1 sebagai berikut:

**Tabel 5. 1** Uji Standarisasi Ekstrak Jintan Putih

| Parameter Uji   | Syarat FHI (Farmakope Herbal Indonesia) | 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.

Dari tabel di atas, dapat dilihat bahwa EJP memenuhi kedua syarat yang diuji, yaitu kadar air yang lebih rendah dari 19,1% dan kadar abu total yang lebih rendah dari 7,3%. Kadar air sebesar 5,59% dan kadar abu total sebesar 5,3% menunjukkan bahwa EJP memiliki kualitas yang baik dan sesuai dengan standar yang ditetapkan.

Hasil uji standarisasi ini memastikan bahwa EJP dalam penelitian ini aman dan memenuhi kriteria untuk digunakan sebagai bahan aktif dalam sediaan gel yang diterapkan pada tikus jantan galur Wistar model luka eksisi.

#### 5.1.2. Hasil Uji Kualitatif Fitokimia Ekstrak Jintan Putih

Uji kualitatif fitokimia EJP ini dilakukan di Laboratorium FF UNISSULA pada tanggal 24 Juni 2025. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa bioaktif dalam EJP yang dapat memiliki potensi aktivitas biologis.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia EJP yang dilakukan dalam penelitian ini, beberapa senyawa bioaktif terdeteksi dalam ekstrak

tersebut. Berikut adalah hasil dari masing-masing parameter uji yang dilakukan:

1. Saponin: Hasilnya menunjukkan terbentuknya buih pada tabung reaksi, yang mengindikasikan adanya kandungan saponin dalam EJP.
2. Flavonoid: Hasil uji menunjukkan adanya perubahan warna menjadi merah jingga pada tabung reaksi, yang menandakan adanya kandungan flavonoid.
3. Tanin: Hasil uji menunjukkan warna kehitaman pada tabung reaksi, menunjukkan adanya tanin dalam EJP.
4. Alkaloid: Menghasilkan endapan yang menggumpal berwarna kuning atau kecoklatan pada tabung reaksi, yang mengindikasikan adanya alkaloid dalam EJP.
5. Steroid/Triterpenoid: Perubahan warna menjadi merah atau keunguan pada tabung reaksi menunjukkan adanya kandungan steroid atau triterpenoid.
6. Fenolik: Menghasilkan warna merah kehitaman, yang menandakan adanya senyawa fenolik.

Dari hasil skrining fitokimia ini, dapat disimpulkan bahwa EJP mengandung berbagai senyawa fitokimia yang memiliki potensi biologis, seperti saponin, flavonoid, tanin, alkaloid, steroid/triterpenoid, dan fenolik. Senyawa-senyawa ini menunjukkan bahwa jintan putih berpotensi sebagai bahan alami yang dapat

mendukung proses penyembuhan luka, melalui pengaruhnya terhadap peningkatan kadar antioksidan dan pengurangan peradangan. Oleh karena itu, hasil skrining ini memberikan dasar ilmiah yang kuat untuk penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian gel ekstrak jintan putih terhadap kadar  $\text{TNF-}\alpha$  dan kadar SOD pada tikus jantan galur Wistar model luka eksisi, serta potensi aplikasinya dalam mempercepat proses penyembuhan luka melalui mekanisme antiinflamasi dan antioksidan.

### 5.1.3. Hasil Uji Kuantitatif Flavonoid dan Mineral

Uji kuantitatif flavonoid dan mineral EJP dilakukan di Laboratorium FF UI pada tanggal 28 Juli 2025. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa bioaktif dalam EJP yang berpotensi memiliki aktivitas biologis, khususnya yang berkaitan dengan senyawa flavonoid dan logam penting.

**Tabel 5.2** Hasil Uji Kadar Flavonoid dan Logam dalam EJP

| Parameter Uji | Hasil Pengujian | Satuan |
|---------------|-----------------|--------|
| Flavonoid     | 3010,711        | mg/kg  |
| Logam (Zn)    | 31,539          | mg/kg  |
| Logam (Mn)    | 44,224          | mg/kg  |
| Logam (Cu)    | 12,369          | mg/kg  |

Sumber: Sertifikat Hasil Uji Ekstrak Jintan Putih, No. Sampel: 1230/PPM-FFUI/VII/2025

Berdasarkan hasil uji laboratorium yang tercantum dalam sertifikat hasil uji, beberapa senyawa bioaktif terdeteksi dalam EJP

tersebut. Ekstrak jintan putih (EJP) mengandung flavonoid dengan kadar sebesar 3010,711 mg/kg. Selain itu, EJP juga mengandung beberapa logam, yaitu 31,539 mg/kg untuk logam seng (Zn), 44,224 mg/kg untuk logam mangan (Mn), dan 12,369 mg/kg untuk logam tembaga (Cu). Masing-masing logam ini memiliki peran penting dalam berbagai proses biologis dalam tubuh dan kadarnya tidak melebihi batas yang aman. Secara keseluruhan, hasil uji ini mengonfirmasi bahwa EJP mengandung senyawa bioaktif yang potensial, termasuk flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan dan logam penting yang berperan dalam fungsi tubuh.

#### 5.1.4. Hasil Pemeriksaan Kadar TNF- $\alpha$ pada Jaringan Kulit

Hasil analisis rata-rata kadar TNF- $\alpha$  pada tiap kelompok hari ke-6 setelah perlakuan ditunjukkan pada tabel 5.3 sebagai berikut:

**Tabel 5.3** Uji Deskriptif Rata-rata Kadar TNF- $\alpha$  dan Uji *One-Way ANOVA*

| Kelompok                                  | Tikus Sehat<br>(K1) | Kontrol Negatif<br>(K2) | Kontrol Positif<br>(K3) | Gel EJP 10%<br>(K4) | Gel EJP 20%<br>(K5) | <i>P</i><br><i>value</i> |
|-------------------------------------------|---------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------|---------------------|--------------------------|
| <b>Kadar TNF-<math>\alpha</math> ng/L</b> |                     |                         |                         |                     |                     |                          |
| <i>Mean</i>                               | 284,08              | 344,91                  | 315,40                  | 302,43              | 284,24              |                          |
| <i>SD</i>                                 | 29,91               | 34,62                   | 28,07                   | 42,75               | 20,39               |                          |
| <i>Shapiro-Wilk</i>                       | 0,245               | 0,914                   | 0,142                   | 0,114               | 0,936               |                          |
| <i>Levene Test</i>                        |                     |                         |                         |                     |                     | 0,222                    |
| <i>One-Way ANOVA</i>                      |                     |                         |                         |                     |                     | 0,037                    |

Keterangan:

*Shapiro-Wilk* = Distribusi normal ( $p > 0,05$ )

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

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

Hasil analisis deskriptif menunjukkan bahwa kadar TNF- $\alpha$  terendah terdapat pada kelompok tikus sehat (K1) dengan rata-rata  $284,08 \pm 29,91$  ng/L disusul oleh kelompok perlakuan Gel EJP 20% (K5) dengan rata-rata  $284,24 \pm 20,39$  ng/L. Sebaliknya, kadar TNF- $\alpha$  tertinggi terdapat pada kelompok kontrol negatif (K2) dengan rata-rata  $344,91 \pm 34,62$  ng/L, diikuti oleh kelompok kontrol positif (K3) dengan rata-rata  $315,40 \pm 28,07$  ng/L. Kelompok perlakuan Gel EJP 10% (K4) menunjukkan kadar TNF- $\alpha$  yang sedikit lebih rendah, yaitu  $302,43 \pm 42,75$  ng/L.

Sebelum dilakukan analisis komparatif, terlebih dahulu dilakukan uji asumsi statistik. Uji normalitas menggunakan metode *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa seluruh kelompok memiliki nilai  $p > 0,05$  (berkisar antara 0,114 hingga 0,936), yang mengindikasikan bahwa data berdistribusi normal. Selanjutnya, dilakukan uji homogenitas varians menggunakan *Levene Test*, yang menghasilkan nilai  $p$  sebesar 0,222, yang lebih besar dari 0,05, menunjukkan bahwa varians antar kelompok adalah homogen dan memenuhi syarat untuk dilanjutkan dengan uji *One-way ANOVA* untuk menguji perbedaan pada semua kelompok.

Berdasarkan hasil uji *One-Way ANOVA*, diperoleh nilai  $p = 0,037$ , ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dalam kadar TNF- $\alpha$  pada semua kelompok yang diuji. Berdasarkan hasil ini, dapat disimpulkan bahwa perlakuan yang

diberikan pada masing-masing kelompok mempengaruhi kadar TNF- $\alpha$  secara signifikan.

**Tabel 5.4** Hasil Uji *Post Hoc LSD* setelah Perlakuan terhadap rata-rata kadar TNF- $\alpha$

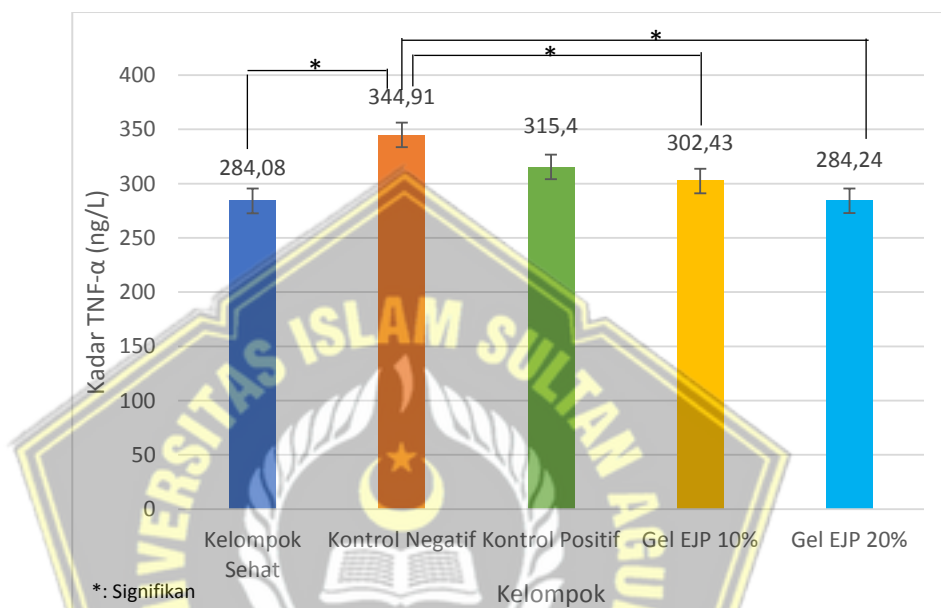
| Kelompok | K1 | K2     | K3    | K4     | K5     |
|----------|----|--------|-------|--------|--------|
| K1       | -  | 0,007* | 0,138 | 0,376  | 0,994  |
| K2       |    | -      | 0,161 | 0,049* | 0,007* |
| K3       |    |        | -     | 0,529  | 0,139  |
| K4       |    |        |       | -      | 0,380  |
| K5       |    |        |       |        | -      |

Keterangan: \*Bermakna  $p < 0,05$

Analisis lebih lanjut dilakukan dengan menggunakan uji *Post Hoc LSD* untuk menentukan secara lebih spesifik kelompok mana yang menunjukkan perbedaan signifikan. Hasil uji yang disajikan pada Tabel 5.4 menunjukkan bahwa kelompok tikus sehat memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol negatif, dengan nilai  $p$  sebesar 0,007. Nilai  $p$  yang lebih kecil dari 0,05 ini menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan pada kelompok kontrol negatif berpengaruh secara signifikan terhadap kadar TNF- $\alpha$  dibandingkan dengan kelompok tikus sehat yang tidak mendapatkan perlakuan.

Perbandingan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok gel EJP 10% dan kelompok gel EJP 20% dengan nilai  $p$  berturut-turut adalah 0,049 dan 0,007 menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan juga pada kadar TNF- $\alpha$  antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dengan gel EJP. Hasil ini mengindikasikan bahwa perbedaan yang ditemukan antara kelompok

kontrol negatif dengan kelompok perlakuan gel EJP 10% dan 20% memiliki tingkat signifikansi yang cukup tinggi, yang berarti 95% dari perbedaan tersebut dapat disebabkan oleh perlakuan yang diberikan.



**Gambar 5.1** Perbandingan Kadar TNF- $\alpha$  antar Kelompok Perlakuan

Sementara itu, tidak ditemukan perbedaan signifikan antara kelompok-kelompok lainnya ( $p > 0,05$ ). Hal ini mengindikasikan bahwa meskipun terdapat variasi kadar TNF- $\alpha$  di antara kelompok-kelompok ini, perbedaan tersebut tidak cukup signifikan untuk dianggap sebagai efek perlakuan yang kuat.

#### 5.1.5. Hasil Pemeriksaan Kadar SOD Jaringan Kulit

Hasil analisis rata-rata kadar SOD pada tiap kelompok hari ke-6 setelah perlakuan ditunjukkan pada tabel 5.5 sebagai berikut:

**Tabel 5.5** Uji Deskriptif Rata-rata Kadar SOD 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> |
|------------------------|------------------|----------------------|----------------------|------------------|------------------|----------------|
| <b>Kadar SOD ng/mL</b> |                  |                      |                      |                  |                  |                |
| <i>Mean</i>            | 2,996            | 4,074                | 4,348                | 3,654            | 5,708            |                |
| <i>SD</i>              | 0,626            | 0,231                | 0,483                | 0,959            | 1,156            |                |
| <i>Shapiro-Wilk</i>    | 0,959            | 0,052                | 0,213                | 0,319            | 0,914            |                |
| <i>Levene Test</i>     |                  |                      |                      |                  |                  | 0,102          |
| <i>One-Way ANOVA</i>   |                  |                      |                      |                  |                  | <0,001         |

Keterangan:

*Shapiro-Wilk* = Distribusi normal ( $p > 0,05$ )*Levene Test* = Data homogen ( $p > 0,05$ )*One-Way ANOVA* = Terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ( $p < 0,05$ )

Hasil analisis deskriptif menunjukkan bahwa kadar SOD tertinggi terdapat pada kelompok gel EJP 20% dengan rata-rata  $5,708 \pm 1,156$  ng/mL, diikuti oleh kelompok kontrol positif dengan rata-rata  $4,348 \pm 0,483$  ng/mL, dan kelompok kontrol negatif dengan rata-rata  $4,074 \pm 0,231$  ng/mL. Sebaliknya, kadar SOD terendah terdapat pada kelompok tikus sehat dengan rata-rata  $2,996 \pm 0,626$  ng/mL, disusul oleh kelompok gel EJP 10% dengan rata-rata  $3,654 \pm 0,959$  ng/mL.

Uji asumsi statistik dilakukan terlebih dahulu sebelum dilakukan analisis komparatif. Uji normalitas menggunakan metode *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa seluruh kelompok memiliki nilai  $p > 0,05$  (berkisar antara 0,052 hingga 0,959), yang mengindikasikan bahwa data berdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas varians menggunakan Uji *Levene*, yang menghasilkan nilai  $p$  sebesar 0,102 ( $p > 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa varians

antar kelompok adalah homogen, sehingga asumsi homogenitas varians dapat diterima, dan uji *One-Way ANOVA* dapat dilanjutkan untuk mengetahui perbedaan pada semua kelompok.

Hasil uji *One-Way ANOVA* menunjukkan nilai  $p$  sebesar  $<0,001$ , yang lebih kecil dari  $0,05$ . Ini mengindikasikan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dalam kadar SOD pada seluruh kelompok yang diuji. Perbedaan ini menunjukkan adanya efek perlakuan yang signifikan terhadap kadar SOD, baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan dengan gel EJP 10% dan 20%. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda signifikan, dilakukan uji *Post Hoc LSD* karena data memenuhi asumsi homogenitas varians.

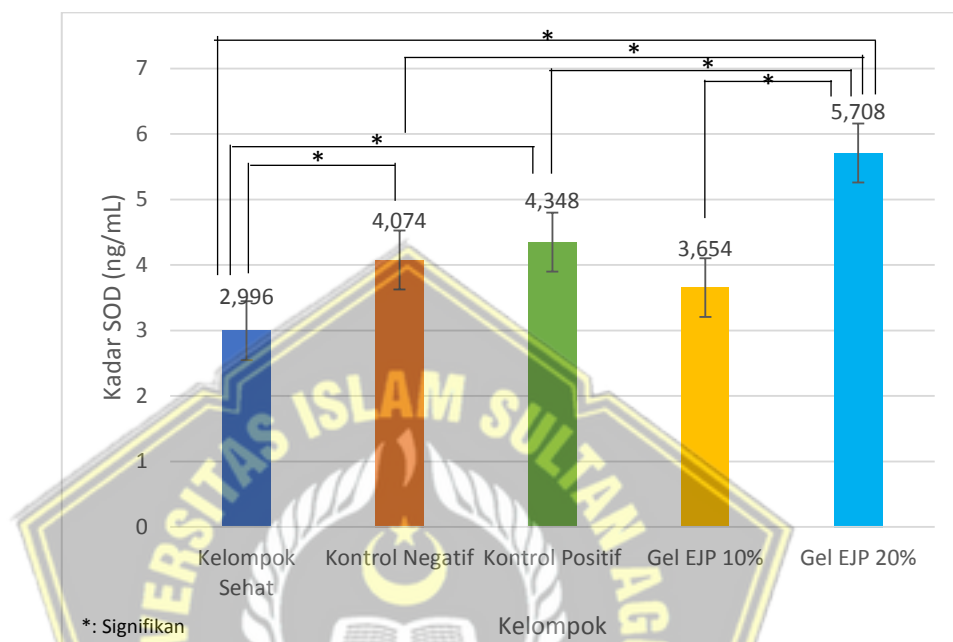
**Tabel 5.6** Hasil Uji *Post Hoc LSD* setelah Perlakuan terhadap Rata-rata Kadar SOD

| Kelompok | K1 | K2     | K3     | K4    | K5         |
|----------|----|--------|--------|-------|------------|
| K1       | -  | 0,038* | 0,011* | 0,190 | $<0,001^*$ |
| K2       |    | -      | 0,578  | 0,396 | 0,003*     |
| K3       |    |        | -      | 0,168 | 0,011*     |
| K4       |    |        |        | -     | $<0,001^*$ |
| K5       |    |        |        |       | -          |

Keterangan: \*Bermakna  $p < 0,05$

Hasil uji pada Tabel 5.6 menunjukkan bahwa kelompok gel EJP 20% memiliki perbedaan signifikan dengan semua kelompok lainnya dengan nilai  $p < 0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan dengan gel EJP 20% memiliki efek yang lebih kuat terhadap peningkatan kadar SOD dibandingkan dengan kelompok lainnya. Kelompok tikus

sehat juga mengalami perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif, dengan nilai  $p$  berturut-turut adalah 0,038 dan 0,011.



**Gambar 5.2** Perbandingan Kadar SOD antar Kelompok Perlakuan

Berdasarkan hasil tersebut, pemberian gel EJP dengan konsentrasi 20% memberikan peningkatan kadar SOD yang signifikan dibandingkan dengan kelompok sehat, kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan kelompok gel EJP 10%.

#### 5.1.6. Gambaran Makroskopis pada Luka Eksisi Antar Kelompok

Pengamatan makroskopis luka eksisi dilakukan untuk mengetahui kondisi awal luka pada masing-masing kelompok sebelum dimulainya perlakuan, proses penyembuhan luka, dan kondisi akhir luka di hari ke-6. Pemeriksaan ini bertujuan memastikan

bahwa prosedur pembuatan luka eksisi dilakukan secara konsisten pada semua 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 mengalami perlakuan eksisi, sehingga tidak dicantumkan ukuran luka dan hanya digunakan sebagai acuan normal.

Pada hari ke-0, semua kelompok perlakuan (K2–K5) memiliki diameter luka yang seragam, yaitu sebesar 8 mm, sesuai dengan prosedur awal eksisi. Luka eksisi yang dibuat pada kulit hewan percobaan terlihat dengan jelas, dengan bentuk lingkaran yang terpotong rapi pada lapisan epidermis dan dermis. Luka ini tampak putih tanpa adanya perdarahan, menunjukkan bahwa pembuluh darah kecil telah mengalami penutupan segera setelah luka dibuat. Jaringan di sekitar luka tampak normal, meskipun terdapat sedikit pembengkakan yang menandakan respons inflamasi awal.

Perbedaan yang diamati pada tahap ini terutama pada kondisi permukaan luka dan warna jaringan, yang dapat menjadi indikator awal proses penyembuhan yang akan diamati pada hari-hari berikutnya. Pengamatan makroskopis pada subjek tikus pasca luka eksisi (hari ke-6) menunjukkan percepatan penyembuhan dan penutupan luka seperti pada gambar 5.3 berikut.



**Gambar 5.3** Gambaran Makroskopis Hari ke-0 (H0) 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%)

Hasil pengukuran menunjukkan adanya penurunan ukuran luka secara bertahap pada kelompok perlakuan dari hari ke hari. Pada hari ke-6, observasi terhadap luka yang dibuat pada berbagai kelompok percobaan menunjukkan perbedaan yang jelas dalam ukuran luka dan respons inflamasi.

Pada hari ke-6, luka pada kelompok kontrol negatif menunjukkan ukuran yang lebih lebar dibandingkan kelompok lain dengan pembengkakan jaringan yang jelas terlihat di sekitar luka. Diameter luka pada kelompok ini menunjukkan sedikit penurunan

dari 8 mm pada hari pertama (H0) menjadi 6 mm pada hari keenam (H6), yang mengindikasikan bahwa proses penyembuhan berlangsung lebih lambat dan masih terpengaruh oleh peradangan yang berkelanjutan.

Kelompok kontrol positif menunjukkan perkembangan penyembuhan yang paling baik diikuti dengan kelompok gel EJP 20%. Luka yang terbentuk tampak mengecil dengan tidak adanya pembengkakan pada jaringan sekitar dan tepi luka tampak lebih rata dan teratur. Diameter luka berkurang dari 8 mm menjadi hanya 3 mm (kelompok kontrol positif) dan 4 mm (kelompok gel EJP 20%) pada hari keenam. Pada kelompok gel EJP 10%, diameter luka juga menunjukkan penurunan dari 8 mm pada hari pertama menjadi 5 mm pada hari keenam. Luka mengecil dengan tidak adanya pembengkakan pada jaringan sekitar.

## **5.2. Pembahasan**

### **5.2.1. Pembahasan Uji Standarisasi Ekstrak Jintan Putih**

Pengujian standarisasi ekstrak etanol biji jintan putih merupakan langkah penting dalam memastikan kualitas bahan yang digunakan dalam penelitian ini. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk memastikan bahwa ekstrak yang digunakan memenuhi standar yang telah ditetapkan, baik dari segi kandungan senyawa aktif maupun komponen lainnya yang dapat mempengaruhi stabilitas, efektivitas,

dan keamanan sediaan topikal. Dua parameter utama yang diuji adalah kadar air dan kadar abu total, yang berfungsi sebagai indikator kualitas fisikokimia ekstrak tersebut.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa kadar air dalam EJP tercatat sebesar 5,59%, jauh lebih rendah dibandingkan dengan batas maksimal yang diizinkan, yaitu 19,1%. Kadar air yang rendah ini mengindikasikan bahwa ekstrak memiliki stabilitas yang baik. Hal ini sangat penting, karena kadar air yang rendah dapat mengurangi kemungkinan pertumbuhan mikroba dan memperlambat degradasi senyawa aktif dalam ekstrak selama penyimpanan. Penurunan kadar air biasanya berhubungan dengan ekstrak yang lebih stabil dan memiliki masa simpan lebih panjang, serta mengurangi risiko kontaminasi mikroba.<sup>53</sup> Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa bahan dengan kadar air rendah lebih tahan terhadap kerusakan akibat mikroba, sehingga dapat meningkatkan ketahanan produk terhadap degradasi selama penyimpanan. Selain itu, kadar air yang rendah berhubungan dengan stabilitas fisikokimia yang lebih baik pada produk herbal, yang menjaga kualitasnya dalam jangka panjang.<sup>54</sup>

Kadar abu total dalam EJP diuji dan tercatat sebesar 5,3%, yang memenuhi standar yang ditetapkan, yaitu kurang dari 7,3%. Kadar abu total mencerminkan kandungan mineral anorganik dalam ekstrak, yang menunjukkan tingkat kemurnian ekstrak tersebut. Kadar abu total yang terkendali menunjukkan bahwa EJP memiliki kandungan

mineral yang berada dalam batas aman, yang penting untuk menjaga kemurnian dan keamanan bahan yang digunakan. Kandungan abu yang tinggi dapat menjadi indikasi adanya kontaminasi atau penggunaan bahan yang tidak murni, sementara kadar yang terkontrol mencerminkan kemurnian dan kualitas bahan baku yang lebih baik.<sup>55</sup>

#### **5.2.2. Pembahasan Skrining Fitokimia Ekstrak Jintan Putih**

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi potensi terapeutik ekstrak ini. Skrining fitokimia bertujuan untuk menilai kandungan senyawa bioaktif yang dapat mendukung proses penyembuhan luka, khususnya dalam hal pengaturan inflamasi dan antioksidan. Penelitian ini mengukur senyawa flavonoid dan logam mineral (Zn, Mn, dan Cu) karena senyawa tersebut memiliki aktivitas biologis yang membantu penyembuhan dalam peradangan. Senyawa flavonoid dari biji jintan putih menunjukkan potensi antiinflamasi yang kuat dengan cara menghambat jalur NF- $\kappa$ B dan MAPK, yang merupakan dua jalur penting dalam respons inflamasi. Penghambatan jalur-jalur ini dapat mengurangi produksi sitokin proinflamasi sehingga dapat mengurangi peradangan dalam tubuh.<sup>56</sup>

Mineral Zn, Mn, dan Cu juga diukur kadarnya dalam ekstrak untuk memahami aktivitas antiinflamasi dan perannya dalam mengurangi stres oksidatif. Mineral-mineral ini berperan sebagai

kofaktor dan terlibat langsung dalam pembentukan Cu/Zn-SOD serta Mn-SOD yang berfungsi mengurangi radikal bebas.<sup>31</sup>

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa EJP mengandung berbagai senyawa fitokimia yang dapat berkontribusi pada proses penyembuhan luka melalui pengaruh antiinflamasi dan antioksidan seperti saponin, flavonoid, tanin, alkaloid, steroid/triterpenoid, dan fenolik.<sup>57</sup> Senyawa-senyawa tersebut dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka. Saponin dan tanin menurunkan kadar TNF- $\alpha$ , mengurangi peradangan, sementara flavonoid dan fenolik meningkatkan enzim SOD, membantu melawan stres oksidatif. Alkaloid meredakan nyeri dan mengatur inflamasi, sementara steroid/triterpenoid mempercepat regenerasi sel dan mengurangi peradangan. Senyawa flavonoid dan fenolik memiliki efek antiinflamasi yang kuat dan dapat merangsang proses penyembuhan luka dengan cara mengurangi peradangan dan meningkatkan angiogenesis, sehingga mempercepat regenerasi jaringan.<sup>58</sup> Cuminaldehyde yang terdapat dalam jintan putih juga mampu menekan kadar TNF- $\alpha$  dan IL-6 melalui penghambatan jalur NF- $\kappa$ B dan MAPK, serta meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seperti SOD dan GPX pada berbagai model inflamasi dan luka jaringan.<sup>11,13,22</sup>

Uji kuantitatif terhadap EJP juga dilakukan dalam penelitian ini. Beberapa senyawa penting yang terdeteksi dalam ekstrak tersebut adalah flavonoid, serta logam seng (Zn), mangan (Mn), dan tembaga

(Cu). Kandungan senyawa-senyawa ini memiliki peran penting dalam memodulasi kadar  $\text{TNF-}\alpha$ , yang berhubungan dengan peradangan, serta enzim SOD, yang berfungsi sebagai agen antioksidan dalam tubuh.

Kadar flavonoid dalam ekstrak normal bervariasi tergantung pada jenis tanaman dan metode ekstraksi yang digunakan. Hasil uji menunjukkan bahwa kandungan flavonoid dalam EJP adalah 3010,711 mg/kg. Kadar flavonoid ini dapat dikategorikan sebagai tinggi, karena banyak ekstrak tumbuhan dengan kadar flavonoid yang efektif dalam menurunkan sitokin proinflamasi.<sup>59,60</sup>

Kadar logam Zn dalam EJP adalah 31,539 mg/kg. Nilai ini sedikit lebih rendah dibandingkan laporan sebelumnya pada varietas lain yang mencapai 44 mg/kg.<sup>61</sup> Namun, jika dibandingkan dengan kandungan Zn pada berbagai tanaman rempah lain, nilai tersebut termasuk paling tinggi, mengindikasikan bahwa jintan putih merupakan salah satu sumber Zn nabati yang potensial. Kandungan Zn yang tinggi ini dapat memberikan kontribusi terhadap aktivitas biologisnya, mengingat Zn berperan penting dalam fungsi enzim antioksidan dan sistem imun. Kadar Zn dalam ekstrak tumbuhan yang efektif meningkatkan aktivitas SOD dan mengurangi  $\text{TNF-}\alpha$  umumnya berkisar antara 30–50 mg/kg. Zn meningkatkan aktivitas enzim SOD, yang membantu tubuh dalam melawan radikal bebas yang terbentuk selama peradangan dan penyembuhan luka.<sup>62</sup>

Zn juga berfungsi sebagai kofaktor dalam berbagai enzim yang mengatur respons inflamasi, termasuk pengurangan kadar TNF- $\alpha$ .<sup>63</sup> Kadar Zn yang cukup dalam sampel jintan putih pada penelitian ini berpotensi menurunkan kadar TNF- $\alpha$  melalui mekanisme penghambatan aktivasi jalur NF- $\kappa$ B, sebagaimana dilaporkan pada studi in vitro bahwa Zn dapat mengurangi aktivasi NF- $\kappa$ B dan menekan gen targetnya, termasuk TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ .<sup>64</sup>

Kandungan logam Mn dalam EJP pada penelitian ini tercatat sebesar 44,224 mg/kg jauh lebih tinggi dibandingkan laporan penelitian sebelumnya yang melaporkan kadar Mn sekitar 26,01 mg/kg pada varietas jintan putih.<sup>61</sup> Peningkatan kadar Mn ini dapat disebabkan oleh perbedaan kondisi tanah, iklim, varietas tanaman, maupun metode budidaya yang memengaruhi akumulasi mineral pada biji. Kandungan Mn yang tinggi berpotensi meningkatkan aktivitas enzim-enzim antioksidan seperti mangan superoksida dismutase (Mn-SOD), yang berperan penting dalam mengatasi stres oksidatif di area luka. Aktivitas SOD ini sangat penting dalam penyembuhan luka, karena stres oksidatif yang tinggi dapat menghambat proses penyembuhan.<sup>65</sup>

Kandungan logam Cu yang terdeteksi dalam EJP adalah 12,369 mg/kg sedikit lebih tinggi dibandingkan laporan penelitian sebelumnya yang mencatat kadar Cu sebesar 11,87 mg/kg pada varietas sejenis.<sup>61</sup> Perbedaan kecil ini dapat disebabkan oleh variasi

genetik tanaman, kondisi tanah yang kaya unsur tembaga, serta metode ekstraksi yang digunakan. Kandungan Cu yang relatif tinggi pada jintan putih berkontribusi terhadap berbagai fungsi biologis, termasuk sebagai kofaktor enzim yang terlibat dalam metabolisme energi dan pertahanan antioksidan, seperti Cu/Zn-superoksida dismutase (Cu/Zn-SOD). Logam Cu mendukung aktivasi cuprous superoksida dismutase (Cu-SOD), yang juga berperan dalam menurunkan stres oksidatif dan mengurangi peradangan.<sup>66</sup> Kadar Cu juga berkaitan dengan TNF- $\alpha$  dimana cukupnya Cu di jaringan tubuh dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  yang dapat mengurangi peradangan dan kerusakan jaringan lebih lanjut.<sup>67</sup>

Berdasarkan hasil penelitian ini, kandungan flavonoid, Zn, Mn, dan Cu dalam EJP menunjukkan potensi dalam meningkatkan kadar SOD yang dapat dilihat dari nilai SOD tertinggi pada kelompok perlakuan dengan gel EJP 20%.

### 5.2.3. Pengaruh Pemberian EJP terhadap Kadar TNF- $\alpha$

Model luka eksisi, yang sering digunakan dalam penelitian, merupakan contoh yang baik untuk mengevaluasi efek terapeutik senyawa-senyawa tersebut, karena mencerminkan seluruh proses fisiologis penyembuhan luka, mulai dari fase haemostasis, inflamasi, proliferasi, hingga remodeling. Kondisi luka mengakibatkan terjadinya peningkatan kadar TNF- $\alpha$  seiring aktivasi sistem imun,

yang dapat memicu peradangan berkepanjangan apabila tidak terkontrol. Sebaliknya, aktivitas enzim antioksidan seperti SOD justru menurun akibat stres oksidatif yang berlebihan, sehingga memperlambat regenerasi jaringan. Oleh karena itu, terapi yang mampu menekan kadar TNF- $\alpha$  sekaligus meningkatkan kadar SOD menjadi strategi yang ideal untuk mempercepat penyembuhan luka.

Pada fase inflamasi awal penyembuhan luka, TNF- $\alpha$  berperan sebagai sitokin utama yang dilepaskan, terutama oleh makrofag dan neutrofil, sebagai respons terhadap cedera jaringan dan infeksi. TNF- $\alpha$  berfungsi untuk menginisiasi proses penyembuhan dengan merangsang rekrutmen sel inflamasi, meningkatkan permeabilitas pembuluh darah, serta memfasilitasi ekspresi sitokin dan kemokin lainnya, yang memperkuat respons imun tubuh. Proses ini terjadi dalam 24-72 jam pertama setelah cedera, yang merupakan periode kritis dalam fase inflamasi penyembuhan luka. Meskipun TNF- $\alpha$  esensial untuk memulai penyembuhan luka, kadar TNF- $\alpha$  yang tinggi dan persisten dapat memperburuk kondisi dengan menyebabkan inflamasi kronis, yang justru menghambat transisi ke fase proliferasi dan regenerasi jaringan. Inflamasi yang berkepanjangan ini dapat menghalangi pembentukan jaringan baru dan memperlambat proses penyembuhan luka secara keseluruhan, yang pada akhirnya mengarah pada penurunan efektivitas penyembuhan.<sup>26,68</sup>

Pada penelitian ini, kelompok tikus sehat yang tidak mengalami luka menunjukkan kadar TNF- $\alpha$  terendah, yaitu  $284,08 \pm 29,91$  ng/L. Hal ini menunjukkan bahwa dalam kondisi sehat tanpa adanya peradangan atau cedera, kadar TNF- $\alpha$  berada dalam rentang yang rendah karena tubuh tidak mengalami aktivasi sistem imun yang signifikan. TNF- $\alpha$  adalah sitokin proinflamasi yang diproduksi oleh sel-sel imun seperti makrofag dan neutrofil sebagai respons terhadap cedera atau infeksi. Pada tikus sehat tidak mendapat rangsangan inflamasi sehingga kadar TNF- $\alpha$  tetap rendah.<sup>26</sup>

Kadar TNF- $\alpha$  pada kelompok gel EJP 20% adalah  $284,24 \pm 20,39$  ng/L, yang sama dengan kelompok tikus sehat. Selain itu, hasil menunjukkan bahwa kadar TNF- $\alpha$  pada kelompok gel EJP 20% dan kelompok gel EJP 10% ( $302,43 \pm 42,75$  ng/L) lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol positif ( $315,40 \pm 28,07$  ng/L). Hal ini menunjukkan bahwa pada hari ke-6, kadar TNF- $\alpha$  pada kelompok gel EJP sudah mengalami penurunan terkait dengan efek antiinflamasi dari pemberian gel EJP. EJP yang mengandung senyawa bioaktif seperti cuminaldehyde dan flavonoid, diketahui memiliki efek antiinflamasi yang dapat membantu menurunkan produksi TNF- $\alpha$  dalam jaringan yang mengalami peradangan ringan.<sup>13,69</sup> Hasil penelitian ini serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Ritsu et al. dimana kadar TNF- $\alpha$  pada hari ke-5 dan hari ke-7 sudah

mengalami penurunan dan nilainya serupa dengan kadar TNF- $\alpha$  pada saat sebelum induksi luka.<sup>68</sup>

Beberapa penelitian lain juga mendukung temuan ini. Koohsari et al. menyatakan bahwa ekstrak biji *Cuminum cyminum* L. dapat menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  secara signifikan.<sup>70</sup> Hal ini diduga disebabkan oleh aktivitas senyawa seperti cuminaldehyde dan quercetin yang bekerja melalui inhibisi jalur NF- $\kappa$ B. Jalur ini merupakan regulator utama inflamasi, yang ketika dihambat, dapat menurunkan transkripsi gen proinflamasi seperti TNF- $\alpha$  dan IL-6.<sup>22</sup>

Senyawa bioaktif dalam jintan putih memiliki efek terhadap ekspresi COX-2 dan pembentukan prostaglandin E2, yang merupakan mediator utama inflamasi. Jintan putih memiliki potensi antiinflamasi kuat melalui senyawa aromatik dan flavonoid yang bekerja menstabilkan membran sel fagosit dan menghambat pelepasan enzim lisosom.<sup>23</sup> Oleh karena itu, penurunan kadar TNF- $\alpha$  pada kelompok perlakuan dengan gel EJP 20% dapat dikaitkan dengan efek sinergis dari aktivitas antiinflamasi langsung serta peningkatan stabilitas seluler pada area luka.

Kelompok kontrol positif yang diberi salep *povidone iodine* menunjukkan kadar TNF- $\alpha$  yang lebih rendah dibanding kelompok kontrol negatif, hal ini mendukung peran antimikroba dan antiinflamasi ringan dari sediaan ini. *Povidone iodine* dapat menurunkan jumlah mikroorganisme lokal dan menurunkan pelepasan

endotoksin, yang secara tidak langsung menekan produksi TNF- $\alpha$  oleh sel imun lokal.<sup>71</sup>

Kadar TNF- $\alpha$  tertinggi ditemukan pada kelompok kontrol negatif sebesar  $344,91 \pm 34,62$  ng/L, yang menandakan bahwa luka yang hanya diberi gel basis memperlihatkan respon inflamasi yang dominan, serta respon inflamasi tubuh cenderung lebih panjang karena tidak ada intervensi untuk mengatur atau meredakan peradangan.<sup>4</sup>

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil penelitian diantaranya faktor biologis seperti tingkat inflamasi individu dan perbedaan dalam metabolisme, kemungkinan variasi teknik aplikasi topikal juga dapat mempengaruhi bioavailabilitas senyawa aktif pada jaringan luka. Kebiasaan tikus untuk menggaruk-garuk luka juga berpotensi mengganggu proses penyembuhan. Penggarukan tersebut dapat memperburuk kondisi luka dengan menyebabkan kerusakan lebih lanjut pada jaringan yang telah terpapar terapi, serta mempengaruhi distribusi dan efektivitas senyawa aktif yang diberikan. Perilaku menggigit atau menggaruk pada hewan dapat memperlambat penyembuhan luka dan mempengaruhi hasil terapi topikal.<sup>72</sup>

#### **5.2.4. Pengaruh Pemberian EJP terhadap Kadar SOD**

Aktivitas SOD tertinggi tercatat pada kelompok yang menghasilkan kadar TNF- $\alpha$  terendah, yaitu kelompok gel EJP 20%. Temuan ini menunjukkan adanya hubungan antara pengurangan

peradangan dan peningkatan kapasitas tubuh dalam melawan stres oksidatif selama proses penyembuhan. Kelompok gel EJP 20% menunjukkan kadar SOD tertinggi dengan nilai  $5,708 \pm 1,156$  ng/mL yang diikuti oleh kelompok kontrol positif sebesar  $4,348 \pm 0,483$  ng/mL.

Peningkatan kadar SOD pada kelompok gel EJP 20% dapat dijelaskan oleh keberadaan senyawa antioksidan aktif dalam jintan putih seperti flavonoid (quercetin) dan terpenoid (cuminaldehyde). Senyawa-senyawa ini diketahui memiliki kemampuan dalam menginduksi ekspresi gen antioksidan endogen seperti SOD melalui aktivasi jalur Nrf2-ARE (*Nuclear factor erythroid 2-related factor 2-antioxidant response element*). Jalur ini berperan dalam meningkatkan transkripsi berbagai enzim detoksifikasi dan antioksidan, termasuk SOD, GPX, dan CAT.<sup>73</sup> Aktivasi Nrf2 juga dapat mengurangi stres oksidatif dan menghambat aktivasi NF- $\kappa$ B, sehingga mempercepat proses fase inflamasi dan memfasilitasi transisi ke fase proliferasi penyembuhan luka.<sup>74</sup>

Pemberian senyawa cuminaldehyde dapat meningkatkan aktivitas enzim SOD dan mempercepat pembentukan jaringan granulasi serta reepitelisasi luka.<sup>22</sup> Senyawa flavonoid dalam jintan putih dapat menstabilkan membran sel dan menghambat peroksidasi lipid, yang secara tidak langsung mengurangi beban oksidatif pada sel fibroblas dan keratinosit.<sup>23</sup> Hal ini menjelaskan bagaimana

peningkatan kadar SOD pada kelompok gel EJP 20% dapat mempercepat regenerasi jaringan dan memperbaiki kualitas penyembuhan luka.

Kelompok gel EJP 10% menunjukkan kadar SOD yang lebih rendah ( $3,654 \pm 0,959$  ng/mL) dari kontrol negatif ( $4,074 \pm 0,231$  ng/mL). Hal ini mengindikasikan bahwa konsentrasi 10% belum cukup optimal untuk meningkatkan aktivitas antioksidan jaringan. Kemungkinan lain adalah terjadinya respon adaptif yang tertunda akibat konsentrasi senyawa bioaktif yang lebih rendah, sehingga jalur Nrf2 belum diaktifkan secara efektif. Variabilitas biologis juga bisa menjadi faktor, sebagaimana terlihat dari standar deviasi yang cukup tinggi pada kelompok ini.

Kelompok kontrol positif juga menunjukkan peningkatan kadar SOD yang cukup tinggi, mengindikasikan bahwa reduksi beban mikroba dan stres oksidatif lokal dapat mendukung peningkatan kapasitas antioksidan endogen. *Povidone iodine*, meskipun dikenal sebagai antiseptik, juga memiliki efek mengurangi infiltrasi leukosit dan produksi radikal bebas melalui penghambatan aktivitas NADPH oksidase sel imun.<sup>71</sup>

Hasil uji *One-Way ANOVA* menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kelompok ( $p < 0,001$ ), dan data dinyatakan homogen berdasarkan uji *Levene* ( $p = 0,102$ ). Hasil uji *Post Hoc LSD* antara kelompok tikus sehat dengan kontrol negatif menunjukkan adanya

perbedaan yang bermakna ( $p=0,038$ ) yang artinya pembuatan model luka eksisi pada kulit tikus Wistar jantan ini berdampak terhadap kadar SOD.

Hasil uji *Post Hoc LSD* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan dalam kadar SOD antar kelompok yang diuji, khususnya pada kelompok gel EJP 20% yang menunjukkan peningkatan kadar SOD yang lebih tinggi dibandingkan dengan seluruh kelompok lainnya ( $p<0,05$ ). Rata-rata kadar SOD pada kelompok gel EJP 20% tercatat lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok-kelompok lainnya, yang menunjukkan bahwa gel EJP 20% berperan signifikan dalam meningkatkan aktivitas antioksidan tubuh melalui peningkatan kadar SOD. Hal ini bisa dijelaskan dengan kandungan flavonoid, terpenoid, dan mineral dalam gel yang diketahui memiliki efek antioksidan yang kuat.

Kandungan Zn, Mn, dan Cu yang ditemukan pada sampel EJP dalam penelitian ini menunjukkan kadar relatif tinggi dibandingkan sebagian besar tanaman rempah lain. Ketiga mineral ini diketahui berperan sebagai kofaktor penting bagi enzim superoksida dismutase (SOD), yang merupakan salah satu enzim antioksidan utama dalam sistem pertahanan tubuh terhadap radikal bebas. Ketersediaan Zn, Mn, dan Cu yang memadai dapat meningkatkan aktivitas enzim SOD sehingga mampu mempercepat dismutasi radikal superoksida menjadi hidrogen peroksida yang kemudian dinetralkan oleh enzim antioksidan

lain. Dengan demikian, tingginya kadar Zn, Mn, dan Cu pada sampel ini berpotensi memberikan kontribusi signifikan terhadap kapasitas antioksidan total, termasuk peningkatan kadar SOD, yang selaras dengan peran biologis jintan putih dalam mengurangi stres oksidatif.<sup>66</sup>

Kenaikan kadar SOD yang signifikan pada kelompok gel EJP 20% menunjukkan bahwa sediaan topikal berbasis tanaman ini tidak hanya bersifat antiinflamasi, tetapi juga mampu mengaktifkan sistem pertahanan oksidatif tubuh, yang esensial dalam mendukung lingkungan jaringan yang optimal untuk penyembuhan. Peningkatan kadar SOD memperkuat keseimbangan redoks, mencegah kerusakan DNA dan protein, serta melindungi sel regeneratif seperti fibroblas dan keratinosit dari apoptosis akibat stres oksidatif berlebih. Hal ini mempertegas potensi gel EJP 20% sebagai terapi topikal yang tidak hanya mengatasi inflamasi, tetapi juga mempercepat regenerasi melalui modulasi sistem antioksidan jaringan.

Secara keseluruhan, perbandingan antar kelompok menunjukkan bahwa gel EJP 20% memberikan hasil yang lebih optimal dibandingkan gel EJP 10%, baik dalam hal menekan inflamasi (kadar  $\text{TNF-}\alpha$ ) maupun meningkatkan kapasitas antioksidan (kadar SOD). Efek ini tidak hanya lebih unggul dibandingkan kelompok perlakuan lainnya, tetapi juga setara, bahkan lebih baik dalam beberapa aspek, dibandingkan dengan kontrol positif menggunakan salep *povidone iodine*, yang selama ini digunakan sebagai terapi

standar. Temuan ini memperkuat bukti bahwa pemanfaatan ekstrak tanaman seperti jintan putih dalam konsentrasi yang tepat memiliki potensi klinis sebagai terapi topikal untuk luka akut, dengan mekanisme kerja yang melibatkan modulasi inflamasi dan perlindungan terhadap stres oksidatif.<sup>23</sup>

Hubungan antara penurunan kadar TNF- $\alpha$  dan peningkatan kadar SOD pada kelompok perlakuan dengan gel EJP menunjukkan keterkaitan biologis yang penting dalam proses penyembuhan luka. Terdapat korelasi negatif antara kadar sitokin proinflamasi dan enzim antioksidan yang mendukung peran ganda EJP dalam menekan inflamasi dan meningkatkan sistem pertahanan sel terhadap stres oksidatif.

Korelasi tersebut selaras dengan konsep biologis bahwa stres oksidatif dan inflamasi saling berhubungan secara erat dan membentuk siklus yang memperparah kerusakan jaringan apabila tidak dikendalikan. TNF- $\alpha$  dikenal sebagai salah satu sitokin utama yang menstimulasi produksi radikal bebas melalui aktivasi enzim NADPH oksidase dan mitokondria, yang pada gilirannya memperburuk kerusakan jaringan dan memperpanjang fase inflamasi luka.<sup>75</sup> Di sisi lain, enzim SOD berfungsi untuk menetralkan radikal superoksida dan mencegah pembentukan ROS lainnya yang bersifat toksik bagi sel fibroblas, endotel, dan keratinosit.<sup>9</sup>

Peningkatan kadar SOD yang menyertai penurunan kadar TNF- $\alpha$  menunjukkan bahwa gel EJP dapat mengintervensi dua jalur utama patofisiologi luka yaitu inflamasi dan stres oksidatif. Senyawa aktif dalam jintan putih seperti flavonoid (quercetin) dan terpenoid (cuminaldehyde) bekerja secara sinergis dalam menghambat aktivasi NF- $\kappa$ B, yang mengurangi kadar sitokin proinflamasi, termasuk kadar TNF- $\alpha$ , serta sekaligus menginduksi aktivasi Nrf2 yang mengatur ekspresi gen antioksidan seperti SOD dan GPX.<sup>76</sup> Aktivasi simultan jalur Nrf2 dan inhibisi NF- $\kappa$ B menghasilkan efek penyembuhan luka yang lebih cepat, ditandai oleh pengurangan infiltrasi sel inflamasi, peningkatan vaskularisasi, dan pembentukan jaringan granulasi.<sup>77</sup>

Hasil ini juga menunjukkan potensi besar penggunaan fitoterapi dalam praktik klinis modern, terutama dengan adanya bukti kuantitatif bahwa pemberian gel EJP 20% menghasilkan kadar SOD tertinggi serta kadar TNF- $\alpha$  yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Formulasi ini memiliki prospek untuk dikembangkan lebih lanjut menjadi produk berbasis herbal yang dapat digunakan secara luas pada berbagai jenis luka akut dan superfisial, seperti luka pascaoperasi, luka tekan, dan luka trauma ringan hingga sedang.

#### **5.2.4. Pengaruh Pemberian EJP terhadap Makroskopis Luka**

Pada hari ke-6, luka pada kelompok kontrol negatif menunjukkan ukuran yang lebih lebar dibandingkan kelompok lain

dan pembengkakan jaringan yang jelas terlihat di sekitar luka. Penurunan diameter luka yang hanya sedikit pada kelompok kontrol negatif menunjukkan bahwa proses penyembuhan berlangsung lebih lambat dan masih terpengaruh oleh peradangan yang berkelanjutan.

Kelompok kontrol positif menunjukkan perkembangan penyembuhan yang paling baik diikuti dengan kelompok gel EJP 20%. Hal ini menunjukkan bahwa gel EJP 20% memiliki efek yang sangat baik dalam mempercepat penyembuhan luka, bahkan hampir setara dengan kontrol positif, dengan pengurangan inflamasi yang signifikan dan regenerasi jaringan yang lebih cepat. Pada kelompok gel EJP 10% luka mengecil dengan tidak adanya pembengkakan pada jaringan sekitar yang menandakan bahwa gel EJP 10% memiliki efek yang baik dalam mempercepat penyembuhan luka dan mengurangi inflamasi.

#### **5.2.6. Keterbatasan Penelitian**

Keterbatasan penelitian ini perlu menjadi perhatian untuk pengembangan penelitian lebih lanjut. Pada penelitian ini pengambilan sampel jaringan kulit untuk pemeriksaan ELISA hanya dilakukan pada hari ke-6 setelah perlakuan, hal ini menjadi keterbatasan dalam penelitian dikarenakan hanya melihat efek pemberian gel EJP pada hari ke-6 setelah perlakuan saja. Selain itu konsentrasi gel EJP yang digunakan penelitian ini hanya

menggunakan konsentrasi 10% dan 20% yang mungkin belum cukup optimal.

Keterbatasan penelitian juga ditemukan pada uji fitokimia ekstrak. Penelitian ini hanya mengidentifikasi kadar flavonoid secara kualitatif dan kuantitatif tanpa mengidentifikasi secara spesifik jenis flavonoidnya seperti quercetin. Begitu pula dengan kadar terpenoid, yang dalam penelitian ini hanya diuji secara kualitatif dalam bentuk triterpenoid namun belum menguji kandungan cuminaldehyde dalam jintan putih secara spesifik. Pengujian ini penting untuk membandingkan efektivitas dan kecepatan proses penyembuhan luka, serta sebagai standarisasi untuk pembuatan gel EJP sebagai terapi.

Keterbatasan lainnya dari penelitian ini adalah hanya mengukur satu marker proinflamasi yaitu TNF- $\alpha$  dan satu marker antioksidan yaitu SOD, sehingga hasilnya tidak cukup untuk memvalidasi secara menyeluruh bahwa EJP memiliki efek antiinflamasi dan antioksidan. Inflamasi adalah proses kompleks dan multikomponen. Efek antiinflamasi bisa bersifat selektif. Suatu ekstrak mungkin menurunkan kadar TNF- $\alpha$  tetapi tidak memengaruhi kadar IL-6 atau malah meningkatkan kadar IL-10. Maka, hanya mengukur kadar TNF- $\alpha$  bisa memberikan gambaran yang parsial terhadap fungsi sebagai antiinflamasi. Demikian juga dengan fungsi sebagai antioksidan, pengukuran satu marker antioksidan (kadar SOD) hanya memberi gambaran yang parsial. Diperlukan pendekatan multi-marker.

## **BAB VI**

### **KESIMPULAN**

#### **6.1 Kesimpulan**

1. Pemberian topikal gel EJP pada tikus jantan galur Wistar model luka eksisi berpengaruh terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD secara signifikan dibanding pemberian gel basis maupun salep *povidone iodine*.
2. Terdapat perbedaan signifikan rata-rata kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD pada jaringan kulit tikus jantan galur Wistar sehat dibanding kontrol negatif dengan luka eksisi.
3. Terdapat perbedaan signifikan kadar TNF- $\alpha$  antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan gel EJP 10% dan 20%, sedangkan kadar SOD menunjukkan perbedaan signifikan pada jaringan kulit tikus jantan galur Wistar model luka eksisi antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan gel EJP 20%.
4. Tidak terdapat perbedaan kadar TNF- $\alpha$  pada jaringan kulit tikus jantan galur Wistar model luka eksisi antar kelompok perlakuan. Terdapat perbedaan signifikan kadar SOD pada jaringan kulit tikus jantan galur Wistar model luka eksisi antar kelompok perlakuan.

## 6.2 Saran

1. Memperpanjang waktu pemeriksaan dengan menambahkan titik waktu pada hari ke-3, 7, dan 14 guna memberikan gambaran yang lebih komprehensif mengenai proses pemulihan jaringan.
2. Menguji beberapa konsentrasi gel berbeda pada penelitian selanjutnya guna mengetahui efek yang lebih optimal dan signifikan.
3. Melakukan uji fitokimia yang lebih mendalam untuk mengidentifikasi flavonoid spesifik seperti quercetin dan kuantifikasi terpenoid seperti cuminaldehyde yang dapat berkontribusi pada efek terapeutik.
4. Melakukan pengukuran multi-marker proinflamasi seperti IL-1, IL-6, serta marker antiinflamasi seperti IL-10 dan kombinasi marker penanda stres oksidatif seperti ROS, MDA, GPX dan CAT untuk memberikan gambaran yang lebih lengkap tentang dampak perlakuan terhadap peradangan dan stres oksidatif.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Afonso AC, Oliveira D, Saavedra MJ, Borges A, Simões M. *Biofilms in Diabetic Foot Ulcers: Impact, Risk Factors and Control Strategies*. Vol. 22, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI; 2021.
2. 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.
3. Wilkinson HN, Hardman MJ. *Wound Healing: Cellular Mechanisms and Pathological Outcomes*. In: *Advances in Surgical and Medical Specialties*. Taylor and Francis; 2023. p. 341–70.
4. 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.
5. Primadina N, Basori A, Perdanakusuma DS. *Proses Penyembuhan Luka Ditinjau dari Aspek Mekanisme Seluler dan Molekuler*. 2019;
6. Rosyid F. *Wounds: Physiological Mechanisms and Factors Affecting Healing*. *Int J Res Med Sci*. 2022 Mar 28;10(4):1001.
7. Sen CK. *Human Wound and Its Burden: Updated 2022 Compendium of Estimates*. Vol. 12, *Advances in Wound Care*. Mary Ann Liebert Inc.; 2023. p. 657–70.
8. Riskesdas. *Laporan Riskesdas 2018 Nasional*. Jakarta: Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (LPB); 2018.
9. 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.
10. Cedillo-Cortezano M, Martinez-Cuevas LR, López JAM, Barrera López IL, Escutia-Perez S, Petricevich VL. *Use of Medicinal Plants in the Process of Wound Healing: A Literature Review*. Vol. 17, *Pharmaceuticals*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024.
11. 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.
12. Al-Snafi AE. *The Pharmacological Activities of Cuminum cyminum - A review* [Internet]. 2016. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/313742829>
  13. 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).
  14. 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.
  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. Hakim AR, Saputri R. Narrative Review: Optimasi Etanol Sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik. *Jurnal Surya Medika (JSM)*. 2020;
  17. AL Juhaimi FY, Ghafoor K. *Extraction Optimization and in Vitro Antioxidant Properties of Phenolic Compounds from Cumin (Cuminum cyminum L.) Seed*. *Int Food Res J*. 2013;20(4):1669–75.
  18. 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.
  19. Verma A, Singh S, Kaur R, Jain UK. *Topical Gels as Drug Delivery Systems: A Review*. 2013;
  20. Ghanbari M, Salkovskiy Y, Carlson MA. *The Rat as an Animal Model in Chronic Wound Research: An Update*. Vol. 351, *Life Sciences*. Elsevier Inc.; 2024.
  21. Wati DP, Ilyas S, Yurnadi. *Prinsip Dasar Tikus sebagai Model Penelitian*. Medan: USU Press; 2024. 9–12 p.
  22. de Morais SV, Calado GP, Carvalho RC, Garcia JBS, de Queiroz TM, Cantanhede Filho AJ, et al. *Impact of Cuminaldehyde and Indomethacin*

- Co-Administration on Inflammatory Responses in MIA-Induced Osteoarthritis in Rats. Pharmaceuticals.* 2024 May 1;17(5).
23. 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.
  24. Yang S, Wang J, Brand DD, Zheng SG. *Role of TNF-TNF Receptor 2 Signal in Regulatory T Cells and Its Therapeutic Implications. Vol. 9, Frontiers in Immunology.* Frontiers Media S.A.; 2018.
  25. Gonzalez Caldito N. *Role of Tumor Necrosis Factor-alpha in the Central Nervous System: a Focus on Autoimmune disorders. Vol. 14, Frontiers in Immunology.* Frontiers Media SA; 2023.
  26. Yusuf K. *The Role of TNF-Alpha in the Wound Healing Process: Molecular and Clinical Perspectives - a Systematic Literature Review.* RSMH Palembang. 2022;
  27. Horiuchi T, Mitoma H, Harashima SI, Tsukamoto H, Shimoda T. *Transmembrane TNF- $\alpha$ : Structure, Function and Interaction with Anti-TNF Agents. Vol. 49, Rheumatology.* 2010. p. 1215–28.
  28. Mehta AK, Gracias DT, Croft M. *TNF Activity and T cells.* Elsevier. 2016;
  29. Aydin S, Emre E, Ugur K, Aydin MA, Sahin İ, Cinar V, et al. *An Overview of ELISA: A Review and Update on Best Laboratory Practices for Quantifying Peptides and Proteins in Biological Fluids. Vol. 53, Journal of International Medical Research. SAGE Publications Ltd;* 2025.
  30. Arief H, Aris M. *Peranan Stres Oksidatif Pada Proses Penyembuhan Luka. Vol. 5, (Online) Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma.* 2018.
  31. Zheng M, Liu Y, Zhang G, Yang Z, Xu W, Chen Q. *The Applications and Mechanisms of Superoxide Dismutase in Medicine, Food, and Cosmetics. Vol. 12, Antioxidants. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI);* 2023.
  32. Kurahashi T, Fujii J. *Roles of Antioxidative Enzymes in Wound Healing. Vol. 3, Journal of Developmental Biology. MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute;* 2015. p. 57–70.
  33. *Human Superoxide Dismutase 1 ELISA* [Internet]. [cited 2025 Apr 17]. Available from: <https://www.abfrontier.com/sod-elisa>
  34. Li J, Lei J, He L, Fan X, Yi F, Zhang W. *Evaluation and Monitoring of Superoxide Dismutase (SOD) Activity and Its Clinical Significance in*

*Gastric Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. Medical Science Monitor.* 2019;25:2032–42.

35. 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
36. Mohammed FS, Sevindik M, Uysal İ, Çesko C, Koraqi H. *Chemical Composition, Biological Activities, Uses, Nutritional and Mineral Contents of Cumin (Cuminum cyminum). Vol. 14, Measurement: Food.* Elsevier Ltd; 2024.
37. Wei J, Zhang X, Bi Y, Miao R, Zhang Z, Su H. *Anti-Inflammatory Effects of Cumin Essential Oil by Blocking JNK, ERK, and NF- B Signaling Pathways in LPS-Stimulated RAW 264.7 Cells. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine.* 2015;2015.
38. Carrillo-Martinez EJ, Flores-Hernández FY, Salazar-Montes AM, Nario-Chaidez HF, Hernández-Ortega LD. *Quercetin, a Flavonoid with Great Pharmacological Capacity. Vol. 29, Molecules. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI);* 2024.
39. Zhong R, Miao L, Zhang H, Tan L, Zhao Y, Tu Y, et al. *Anti-Inflammatory Activity of Flavonols Via Inhibiting MAPK and NF-κB Signaling Pathways in RAW264.7 Macrophages. Curr Res Food Sci.* 2022 Jan 1;5:1176–84.
40. Nugroho A. *Teknologi Bahan Alam. Cetakan Pertama.* Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press; 2017.
41. Hajj J, Sizemore B, Singh K. *Impact of Epigenetics, Diet, and Nutrition-Related Pathologies on Wound Healing. Vol. 25, International Journal of Molecular Sciences. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI);* 2024.
42. Lewis CJ, Stevenson A, Fear MW, Wood FM. *A Review of Epigenetic Regulation in Wound Healing: Implications for The Future of Wound Care. Wound Repair and Regeneration.* 2020 Nov 1;28(6):710–8.
43. Chen C, Liu T, Tang Y, Luo G, Liang G, He W. *Epigenetic Regulation of Macrophage Polarization in Wound Healing. Vol. 11, Burns and Trauma. Oxford University Press;* 2023.
44. Grada A, Mervis J, Falanga V. *Research Techniques Made Simple: Animal Models of Wound Healing. Vol. 138, Journal of Investigative Dermatology. Elsevier B.V.;* 2018. p. 2095-2105.e1.

45. Barcelos RCS, de Mello-Sampayo C, Antoniazzi CTD, Segat HJ, Silva H, Veit JC, et al. *Oral Supplementation with Fish Oil Reduces Dryness and Pruritus in The Acetone-Induced Dry Skin Rat model. J Dermatol Sci.* 2015 Sep 1;79(3):298–304.
46. Lepelletier D, Maillard JY, Pozzetto B, Simon A. *Povidone Iodine: Properties, Mechanisms of Action, and Role in Infection Control and Staphylococcus aureus Decolonization.* 2020; Available from: <https://doi.org/10.1128/AAC>
47. Binsasi RA, Telussa AS, Damanik EM. Perbandingan Efektivitas Ekstrak Daun Chromolaena Odorata Dan Povidone Iodine 10% Terhadap Kepadatan Kolagen Pada Luka Insisi Tikus Putih (Spraguedawley). *Cendana Medical Journal.* 2023 Dec 13;11(2):316–23.
48. Simanjuntak EJ, Zulham Z. Superoksida Dismutase (SOD) dan Radikal Bebas. *Jurnal Keperawatan dan Fisioterapi (JKF).* 2020 Apr 30;2(2):124–9.
49. 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.*
50. Irmawatini, Nurhaedah. *Bahan Ajar Kesehatan Lingkungan: Metodologi Penelitian.* 2017th ed. 2017.
51. 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>
52. 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>:
53. 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>
54. 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>

55. 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.
56. Kang N, Yuan R, Huang L, Liu Z, Huang D, Huang L, et al. *Atypical nitrogen-containing flavonoid in the fruits of cumin (Cuminum cyminum L.) with anti-inflammatory activity. J Agric Food Chem*. 2019 Jul 31;67(30):8339–47.
57. 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.
58. Landge MM. *Review of selected herbal phytoconstituents for wound healing treatment. J Pharmacogn Phytochem*. 2024 Jan 1;13(3):208–15.
59. Aishaqeenah AMF. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Krisan (*Chrysanthemum Cinerariiflorum*) Sebagai Antikanker Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC) Terhadap Kadar Tumor Necrosis Factor - Alpha (TNF- $\alpha$ ) Secara In Vivo. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. 2021;
60. Purnamasari A, Zelviani S, Sahara, Fuadi N. Analisis Nilai Absorbansi Kadar Flavonoid Tanaman Herbal Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. 2022;
61. Ezez D, Birhanu H, Shamena S, Engidaw S. *Bioaccumulation of heavy metals, assessment of carcinogenic and non-carcinogenic health risk in various spices. Journal of Hazardous Materials Advances*. 2024 Aug 1;15.
62. Nazem MR, Asadi M, Jabbari N, Allameh A. *Effects of zinc supplementation on superoxide dismutase activity and gene expression, and metabolic parameters in overweight type 2 diabetes patients: A randomized, double-blind, controlled trial. Clin Biochem [Internet]*. 2019 Jul 1 [cited 2025 Aug 5];69:15–20. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009912019300931>
63. Prasad AS, Beck FW, Bao B, Fitzgerald JT, Snell DC, Steinberg JD, et al. *Zinc supplementation decreases incidence of infections in the elderly: effect of zinc on generation of cytokines and oxidative stress 1-3. Vol. 85, Am J Clin Nutr*. 2007.
64. Jarosz M, Olbert M, Wyszogrodzka G, Młyniec K, Librowski T. *Antioxidant and anti-inflammatory effects of zinc. Zinc-dependent NF- $\kappa$ B*

- signaling. Vol. 25, *Inflammopharmacology*. Birkhauser Verlag AG; 2017. p. 11–24.
65. Warner BB, Burhans MS, Clark JC, Wispe JR. *Tumor necrosis factor-alpha increases Mn-SOD expression: protection against oxidant injury*. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 1991 Apr 1;260(4):L296–301.
  66. Alfari H, Sa'diah S, Juliandi B, Wresdiyati T. *Nano-extract of Acalypha hispida Increased Cu,Zn-SOD Antioxidant in Pancreas of Diabetic Rat [Internet]*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology Journal Homepage*. 2023. Available from: <http://jurnal.unpad.ac.id/ijpst/>
  67. Liu L, Geng X, McDermott J, Shen J, Corbin C, Xuan S, et al. *Copper deficiency in the lungs of TNF- $\alpha$  transgenic mice*. *Front Physiol*. 2016 Jun 14;7(JUN).
  68. Ritsu M, Kawakami K, Kanno E, Tanno H, Ishii K, Imai Y, et al. *Critical Role of Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  in The Early Process of Wound Healing in Skin*. *Journal of Dermatology & Dermatologic Surgery*. 2017 Jan;21(1):14–9.
  69. 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>
  70. Koohsari S, Sheikholeslami MA, Parvardeh S, Ghafghazi S, Samadi S, Poul YK, et al. *Antinociceptive and Antineuropathic Effects of Cuminaldehyde, the Major Constituent of Cuminum cyminum Seeds: Possible Mechanisms of Action: Antinociceptive and Antineuropathic Effects of Cuminaldehyde*. *J Ethnopharmacol*. 2020 Jun 12;255.
  71. 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>
  72. 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.

73. Loboda A, Damulewicz M, Pyza E, Jozkowicz A, Dulak J. *Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: an evolutionarily conserved mechanism. Vol. 73, Cellular and Molecular Life Sciences.* Birkhauser Verlag AG; 2016. p. 3221–47.
74. Mayer C, Riera-Ponsati L, Kauppinen S, Klitgaard H, Erler JT, Hansen SN. *Targeting the NRF2 pathway for disease modification in neurodegenerative diseases: mechanisms and therapeutic implications. Vol. 15, Frontiers in Pharmacology. Frontiers Media SA;* 2024.
75. Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. *Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. Vol. 20, Antioxidants and Redox Signaling.* 2014. p. 1126–67.
76. Saha S, Buttari B, Panieri E, Profumo E, Saso L. *An Overview of Nrf2 Signaling Pathway and Its Role in Inflammation. Vol. 25, Molecules (Basel, Switzerland). NLM (Medline);* 2020.
77. Hu HC, Lei YH, Zhang WH, Luo XQ. *Antioxidant and Anti-inflammatory Properties of Resveratrol in Diabetic Nephropathy: A Systematic Review and Meta-analysis of Animal Studies. Vol. 13, Frontiers in Pharmacology. Frontiers Media S.A.;* 2022.

