

**Pengaruh Gel Ekstrak Sirih (*Piper betle*) dan Aloe Vera
(*Aloe barbadensis*) Terhadap Kadar VEGF dan
Angiopoietin-1
(Studi Eksperimental pada Tikus Wistar Model Luka
Bakar Derajat II)**

TESIS

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Khoiron

MBK.24.23.010453

PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG

2025

HALAMAN PENGESAHAN
TESIS
PENGARUH GEL EKSTRAK KOMBINASI DAUN SIRIH DAN
ALOE VERA TERHADAP KADAR VEGF DAN
ANGIOPOIETIN-1

(Studi Eksperimental pada Tikus Wistar Model Luka Bakar Derajat II)

Disusun oleh

Khoiron

MBK.24.23.010453

akan dipertahankan di depan Tim Penguji

pada tanggal 27 Agustus 2025

dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II



Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan Sp. D.V.E.,

Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes

Subsp.D.K.E, FINS DV, FAADV

NIDN. 8951110021

NIK. 210198046

Mengetahui,

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



Dr. dr. Eko Setiawan, SpB. FINACS

NIP.210.123.106

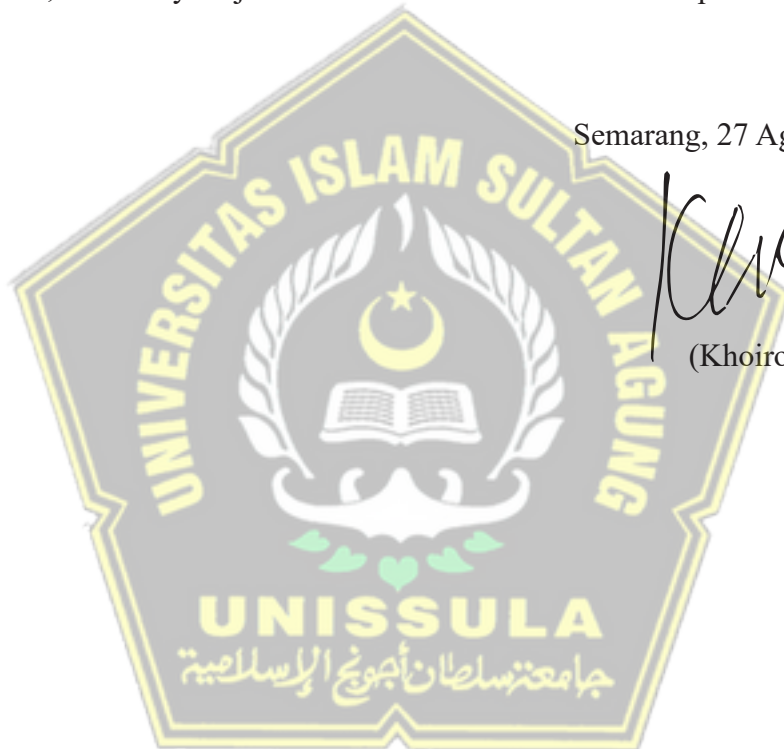
PERNYATAAN

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, 27 Agustus 2025



(Khoiron)



RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Khoiron
Tempat, Tanggal Lahir : Jakarta, 20 Januari 1998
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Laki-laki

B. Riwayat Pendidikan

1. TK Nurul Huda : Lulus 2003
2. MI Nurul Huda : Lulus 2009
3. MTs Nurul Huda : Lulus 2012
4. SMK Farmasi IKIFA : Lulus 2015
5. S1 Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Al-Kamal :2016–2020
6. Magister Manajemen (M.M.), Fakultas Ekonomi dan Bisnis, Universitas Tarumanagara : Lulus 2025
7. Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) :Tahun 2024–sekarang

C. Riwayat Keluarga

Nama Ayah : H. Basulloh
Nama Ibu : Hj. Yoyos Resmia

KATA PENGANTAR

Dengan penuh rasa syukur, penulis menyampaikan terima kasih atas segala berkat, kesempatan, dan dukungan yang telah diberikan, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan proposal tesis dengan judul "Pengaruh Gel Ekstrak Kombinasi Daun Sirih dan Aloe Vera terhadap Kadar VEGF dan Angiopoietin-1 (Studi Eksperimental pada Tikus Wistar Model Luka Bakar Derajat II)" ini dengan baik.

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

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

1. Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Prof. Dr. H. Gunarto, S.H., M.H.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF., S.H.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B., FINACS.
4. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp.D.V.E., SUBSp.D.K.E., selaku pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan dukungan selama proses penyusunan proposal ini.
5. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes., selaku pembimbing kedua yang telah memberikan banyak masukan, saran, dan waktu dalam proses penyusunan ini.
6. Prof. Dr. Dra. Atina Husaana, M.Si., Apt., selaku Penguji I, atas segala waktu, perhatian, dan masukan yang berharga dalam proses penyelesaian penelitian

ini.

7. Prof. Dr. Ir. Hj. Titiek Sumarawati, M.Kes, selaku Penguji II, yang telah memberikan pengetahuan, saran, dan bimbingan yang sangat membantu dalam memperbaiki kualitas karya ilmiah ini.
8. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS, selaku Penguji III, yang telah memberikan kritik konstruktif dan wawasan mendalam yang memperkaya penelitian ini.
9. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang atas ilmu, arahan, dan semangat yang diberikan selama masa perkuliahan.
10. Staf administrasi Program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang atas bantuan dan dukungan administrasi.
11. Serta semua pihak yang telah memberikan bantuan, baik secara langsung maupun tidak langsung, yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

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

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

Semarang, 27 Agustus 2025

Penulis,



Khoiron

ABSTRAK

Latar belakang: Luka bakar merusak jaringan kulit dan pembuluh darah, mengaktifkan angiogenesis melalui VEGF dan Angiopoietin-1. Ekstrak daun sirih dan Aloe vera masing-masing mendukung penyembuhan luka dengan sifat anti-inflamasi dan regenerasi jaringan. Penelitian ini bertujuan menganalisis potensi sinergis gel kombinasi ekstrak daun sirih dan aloe vera terhadap kadar VEGF dan Angiopoietin-1 pada luka bakar derajat II.

Metode: Metode penelitian ini menggunakan *post-test only control group design* dengan objek penelitian tikus jantan galur Wistar. Sebanyak 20 ekor tikus dibagi menjadi 4 kelompok: K1 (base gel), K2 (gel daun sirih 20%), K3 (gel aloe vera 3%), dan K4 (kombinasi gel daun sirih 10% + aloe vera 1,5%). Luka bakar derajat II diinduksi dan diberi perlakuan topikal sekali sehari selama 13 hari. Pengukuran VEGF dan Ang-1 dilakukan pada hari ke-14 setelah perlakuan.

Hasil: Kadar VEGF kelompok gel kombinasi ekstrak daun sirih dan aloe vera (K4) sebesar $574,440 \pm 30,10$ ng/L, yang berbeda signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p=0,007$). Sementara itu, kadar Ang-1 tertinggi juga ditemukan pada kelompok gel kombinasi ekstrak daun sirih dan aloe vera (K4), yaitu $257,560 \pm 7,832$ ng/mL dan berbeda signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p=0,008$).

Kesimpulan: Pemberian gel kombinasi ekstrak daun sirih 10% dan aloe vera 1,5% secara signifikan meningkatkan kadar VEGF dan Ang-1 pada tikus yang mengalami luka bakar derajat II.

Kata Kunci: terapi kombinasi, ekstrak daun sirih, aloe vera, VEGF, Ang-1, luka bakar derajat II

ABSTRACT

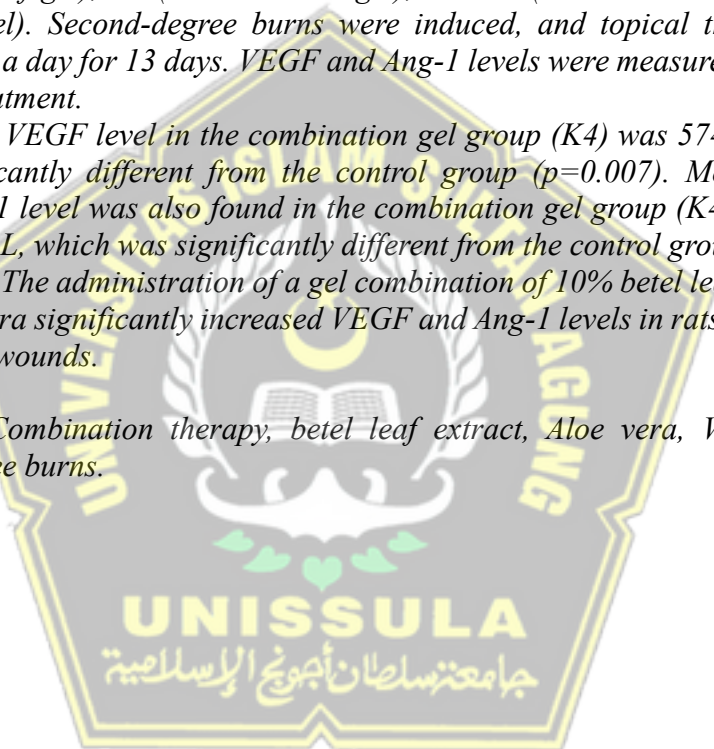
Background: Burns damage skin and blood vessels, activating angiogenesis through VEGF and Angiopoietin-1. The extracts of betel leaf and Aloe vera each support wound healing with anti-inflammatory and tissue regeneration properties. This study aims to analyze the synergistic potential of a gel combination of betel leaf and Aloe vera extracts on VEGF and Angiopoietin-1 levels in second-degree burn wounds.

Method: This study uses a post-test only control group design with male Wistar rats as the subjects. A total of 20 rats were divided into 4 groups: K1 (base gel), K2 (20% betel leaf gel), K3 (3% Aloe vera gel), and K4 (10% betel leaf gel + 1.5% Aloe vera gel). Second-degree burns were induced, and topical treatment was applied once a day for 13 days. VEGF and Ang-1 levels were measured on the 14th day after treatment.

Results: The VEGF level in the combination gel group (K4) was 574.440 ± 30.10 ng/L, significantly different from the control group ($p=0.007$). Meanwhile, the highest Ang-1 level was also found in the combination gel group (K4), at 257.560 ± 7.832 ng/mL, which was significantly different from the control group ($p=0.008$).

Conclusion: The administration of a gel combination of 10% betel leaf extract and 1.5% Aloe vera significantly increased VEGF and Ang-1 levels in rats with second-degree burn wounds.

Keywords: Combination therapy, betel leaf extract, Aloe vera, VEGF, Ang-1, second-degree burns.



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK	vii
<i>ABSTRACT</i>	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.3. Tujuan Penelitian.....	2
1.4. Manfaat Penelitian	3
1.4.1. Teoritis:.....	3
1.4.2. Praktis:	3
1.5. Originalitas Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1. <i>Vascular Endothelial Growth Factors</i> (VEGF)	10
2.2. Angiopoietin.....	12
2.3. Daun Sirih (<i>Piper betle</i>)	14
2.3.1. Daun sirih, VEGF & Angiopoietin-1	16
2.4. Aloe vera (<i>Aloe barbadensis</i>).....	17
2.4.1. Aloe vera, VEGF & Kemampuan Angiogenesis.....	19
2.5. Histologi Kulit.....	21

2.5.1. Epidermis	22
2.5.2. Dermis	24
2.5.3. Hipodermis	25
2.6. Luka Bakar	25
2.6.1. Luka Bakar Derajat 1	27
2.6.2. Luka Bakar Derajat 2	28
2.6.3. Luka Bakar Derajat 3	28
2.7. Patomekanisme dan Penyembuhan Luka Bakar Derajat II	29
2.7.1. Fase Hemostasis (0–Beberapa Jam Setelah Cedera)	29
2.7.2. Fase Inflamasi (1–3 Hari Setelah Cedera)	30
2.7.3. Fase Proliferasi (4–21 Hari Setelah Cedera)	32
2.7.4. Fase Remodelling (21 Hari–1 Tahun Setelah Cedera)	33
2.8. Angiogenesis	34
2.9. Sediaan Gel	37
2.9.1. Penggunaan Gel untuk pengobatan luka bakar	37
2.9.2. Formulasi Gel yang mengandung ekstrak Lidah Buaya dan Daun Sirih	38
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	39
3.1. Kerangka Teori	39
3.2. Kerangka Konsep	46
3.3. Hipotesis Penelitian	46
BAB IV METODE PENELITIAN	47
4.1. Rancangan Penelitian	47
4.2. Populasi dan Sampel	48
4.2.1. Populasi dan Sampel	48
4.2.2. Besar Sampel	48
4.2.3. Cara Pengambilan Sampel Penelitian	49
4.2.4. Kriteria Inklusi	49
4.2.5. Kriteria Eksklusi	49
4.2.6. Drop Out	49
4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	50

4.3.1. Variabel Bebas.....	50
4.3.2. Variabel Terikat	51
4.3.3. Definisi Operasional.....	52
4.4. Alat dan Bahan Penelitian	53
4.4.1. Alat	53
4.4.2. Bahan	54
4.5. Prosedur Penelitian dan Alur Kerja.....	55
4.5.1. Perolehan Ethical Clearance	55
4.5.2. Cara Pembuatan Ekstrak Daun Sirih dan Aloe Vera	55
4.5.3. Pembuatan Sediaan Gel Ekstrak Daun Sirih dan Aloe Vera	56
4.5.4. Penetapan Dosis	57
4.5.5. Cara Persiapan Sebelum Perlakuan.....	57
4.5.6. Cara Pemberian Luka Bakar Derajat II.....	58
4.5.7. Pemberian Perlakuan Gel.....	59
4.5.8. Prosedur Pengujian ELISA untuk Mengukur Kadar VEGF pada Jaringan Tikus.....	60
4.5.9. Prosedur Pengujian ELISA untuk Mengukur Kadar Angiopoietin-1 (Ang-1) pada Jaringan Tikus.....	61
4.5.10. Alur Penelitian.....	64
4.5.11. Tempat dan Waktu Penelitian	65
4.5.12. Analisis Data	66
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	67
5.1. Hasil Penelitian	67
5.1.1. Hasil Pemeriksaan Kadar VEGF pada Jaringan Kulit	68
5.1.2. Hasil Pemeriksaan Kadar Ang-1 pada Jaringan Kulit.....	72
5.1.3. Gambaran Makroskopis pada Luka Eksisi Antar Kelompok.....	74
5.2. Pembahasan Hasil Penelitian	77
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	83
6.1. Kesimpulan	83
6.2. Saran.....	83
DAFTAR PUSTAKA	84

LAMPIRAN.....	90
---------------	----



DAFTAR SINGKATAN

Ang-1 : Angiopoietin-1
Akt : Protein Kinase B
BCA : Bicinchocinic Acid
CD4 : Cluster of Differentiation 4
CMC : Carboxymethylcellulose
CEC : Circulating Endothelial Cells
DAMP : Damage-Associated Molecular Patterns
ECM : Extracellular Matrix
EGF : Epidermal Growth Factor
ERK : Extracellular Signal Regulated-Kinase
ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
eNOS : Endothelial Nitric Oxide Synthase
EPCs : Endothelial Progenitor Cells
HIF-1 α : Hypoxia-Inducible Factor 1-alpha
HUVECs : Human Umbilical Vein Endothelial Cells
HRP : Horseradish Peroxidase
ICAM-1 : Intercellular Adhesion Molecule-1
IL : Interleukin
JNK : c-Jun N-terminal Kinase
KGF : Keratinocyte Growth Factor
LD50 : Lethal Dose for 50% population
MAPK : Mitogen-Activated Protein Kinase
mTOR : Mechanistic Target of Rapamycin
mTORC1 : mTOR Complex 1
mTORC2 : mTOR Complex 2
NF- κ B : Nuclear Factor kappa B
NO : Nitric Oxide
NRP : Neuropilin

PI3K : Phosphoinositide 3-Kinase
PlGF : Placental Growth Factor
ROS : Reactive Oxygen Species
SIRS : Systemic Inflammatory Response Syndrome
SOD : Superoxide Dismutase
TBSA : Total Body Surface Area
TGF- β : Transforming Growth Factor-beta
Tie2 : Tyrosine kinase with immunoglobulin-like and EGF-like domains 2
TMB : 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine
TNF- α : Tumor Necrosis Factor-alpha
VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor
VEGFR : Vascular Endothelial Growth Factor Receptor



DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian	4
Tabel 5.1 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar VEGF dan Kruskal Wallis	68
Tabel 5.2 Hasil Uji Post Hoc Mann Whitney setelah Perlakuan Hari ke-14 terhadap Rata-rata Kadar VEGF	70
Tabel 5.3 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar Ang-1 dan Kruskal Wallis.....	72
Tabel 5.4 Hasil Uji Post Hoc Mann Whitney setelah Perlakuan terhadap Rata-rata Kadar Ang-1	73

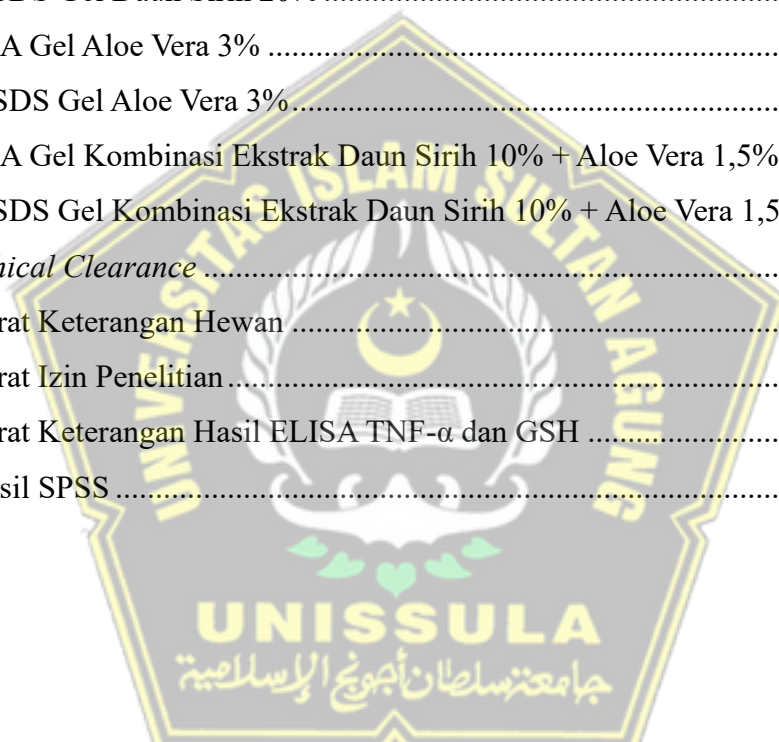


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 VEGF Pathway ¹⁴	10
Gambar 2.2 Angiopoietin-Tie2 Pathway ¹⁷	14
Gambar 2.3 Daun Sirih (<i>Piper betle</i>) ¹⁹	15
Gambar 2.4 Komponen phytochemical utama pada Ekstrak daun sirih dan minyak atsiri. (a) phytol; (b) 4-chromanol; (c) hydroxychavicol; (d) eugenol; (e) carvacrol; (f) chavicol; (g) chavibetol; (h) allylpyrocatechols 1 ²¹	16
Gambar 2.5 Aloe vera (<i>Aloe barbadensis</i>) ²³	18
Gambar 2.6 Epidermis, Dermis, Hipodermis ²⁷	22
Gambar 2.7 Classification of Burn ³³	27
Gambar 2.8 Fase Hemostasis dan Inflamasi Luka Bakar ³⁷	32
Gambar 2.9 Fase Remodelling ³⁷	33
Gambar 3.1 Kerangka Teori	45
Gambar 3.2 Kerangka Konsep	46
Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian	47
Gambar 4.2 Alur Penelitian.....	64
Gambar 5.1 Diagram Batang Kadar VEGF setiap Kelompok	71
Gambar 5.2 Diagram Batang Kadar Ang-1 setiap Kelompok.....	74
Gambar 5.3 Gambaran Makroskopis Hari ke-0 (H0) dan Gambaran Makroskopis Luka Bakar II pada Hari ke-14 (H14) Antar Kelompok Perlakuan (K1: Luka Bakar + Base Gel; K2: Luka Bakar + Gel Daun Sirih 20%; K3: Luka Bakar + Gel Aloe Vera 3%; K4: Luka Bakar + Gel Kombinasi Daun Sirih 10% + Aloe Vera 1,5%)	76

DAFTAR LAMPIRAN

1. CoA Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i>)	90
2. MSDS Ekstrak Daun Sirih (<i>Piper betle</i>).....	91
3. CoA Ekstrak Aloe Vera (<i>Aloe barbadensis</i>).....	93
4. MSDS Ekstrak Aloe Vera (<i>Aloe barbadensis</i>)	94
5. CoA Gel Daun Sirih 20%.....	96
6. MSDS Gel Daun Sirih 20%	97
7. CoA Gel Aloe Vera 3%	98
8. MSDS Gel Aloe Vera 3%.....	99
9. CoA Gel Kombinasi Ekstrak Daun Sirih 10% + Aloe Vera 1,5%.....	100
10. MSDS Gel Kombinasi Ekstrak Daun Sirih 10% + Aloe Vera 1,5%	101
11. <i>Ethical Clearance</i>	102
12. Surat Keterangan Hewan	103
13. Surat Izin Penelitian	105
14. Surat Keterangan Hasil ELISA TNF- α dan GSH	106
15. Hasil SPSS	107



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Luka bakar dapat menyebabkan kerusakan jaringan kulit hingga pembuluh darah. Untuk mengatasi kerusakan jaringan ini, tubuh akan mengaktifkan proses angiogenesis dengan merangsang pelepasan VEGF dan Angiopoietin-1. VEGF dan Angiopoietin-1, yang berperan dalam pembentukan pembuluh darah baru, sangat penting untuk suplai oksigen dan nutrisi ke jaringan tubuh. Jika proses ini terganggu, jalur pensinyalan seperti PI3K/AKT/mTOR juga dapat terganggu, sehingga dapat mempengaruhi proliferasi, migrasi, dan kelangsungan hidup sel, yang akhirnya akan memperlambat penyembuhan luka atau bahkan memperburuk kondisi jaringan yang rusak¹. Beberapa penelitian terdahulu telah mengkaji pengaruh ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan ekstrak Aloe vera (*Aloe barbadensis*) terhadap penyembuhan luka dan luka bakar secara terpisah. Ekstrak daun sirih diketahui memiliki sifat anti-inflamasi dan antimikroba yang mendukung penyembuhan luka, sementara ekstrak Aloe vera terkenal karena kemampuannya dalam merangsang regenerasi jaringan dan mempercepat penyembuhan luka bakar¹. Aktivitas kedua tanaman ini mendukung ekspresi VEGF dan Angiopoietin-1 melalui jalur PI3K/AKT/mTOR, yang penting dalam proses angiogenesis dan regenerasi jaringan²⁻⁴.

Kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) menawarkan alternatif yang menjanjikan untuk mempercepat proses penyembuhan luka bakar derajat II. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi sinergis dari kombinasi kedua ekstrak tersebut dalam mempercepat penyembuhan luka bakar derajat II dengan meningkatkan pembentukan pembuluh darah baru dan kestabilan jaringan yang rusak.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah ada pengaruh gel kombinasi ekstrak daun sirih dan Aloe vera terhadap kadar *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan Angiopoietin-1 pada jaringan luka bakar derajat II?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas pemberian gel kombinasi ekstrak daun sirih dan Aloe vera terhadap Kadar VEGF dan Angiopoietin-1 pada luka bakar derajat II

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Membuktikan pengaruh gel kombinasi ekstrak daun sirih dan Aloe vera terhadap kadar VEGF pada tikus model luka bakar derajat II.
2. Membuktikan pengaruh gel kombinasi ekstrak daun sirih dan Aloe vera terhadap kadar Angiopoietin-1 pada tikus model luka bakar derajat II.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Teoritis:

Penelitian ini memberikan kontribusi ilmiah dalam memperdalam pemahaman tentang peran kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) sebagai agen alami yang mendukung penyembuhan luka bakar derajat II melalui mekanisme angiogenesis. Hasil penelitian ini juga dapat memperkaya literatur terkait peran VEGF dan Angiopoietin-1 dalam proses penyembuhan luka bakar.

1.4.2. Praktis:

Penelitian ini memiliki aplikasi praktis dalam pengembangan produk perawatan luka berbasis bahan alami yang efektif dan aman, khususnya dalam terapi luka bakar derajat II. Gel kombinasi ekstrak daun sirih dan Aloe vera berpotensi menjadi alternatif dalam manajemen luka bakar, yang tidak hanya membantu mempercepat proses penyembuhan tetapi juga mengurangi risiko efek samping yang mungkin timbul dari penggunaan bahan sintetis. Produk ini diharapkan dapat diterapkan di dunia medis sebagai terapi komplementer yang sejalan dengan tren “Back to Nature” untuk mendukung pendekatan kesehatan yang lebih alami dan berkelanjutan.

1.5. Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

No	Penelitian publikasi, Tahun	Judul	Metode	Hasil Penelitian
1	Darmawan, Awal Yusuf, Saldy Tahir, Takdir Syahriyani,	Betel Leaf Extract Efficacy on Wound Healing: A Systematic review	Review sistematik pada literatur dengan pendekatan RCT yang dipublikasi dalam 10 tahun terakhir mengenai potensi daun sirih pada penyembuhan luka.	Ekstrak daun sirih 3% berperan dalam mengatur proses inflamasi selama penyembuhan luka. Pada hari ke-3, kadar IL-1 β menurun signifikan (0.97 pg/ml, $p < 0.002$, $r = 0.701$), menunjukkan bahwa ekstrak ini dapat mengontrol respon peradangan awal. Peningkatan pertumbuhan pembuluh darah serta penebalan lapisan kolagen, yang berkontribusi terhadap proliferasi sel. Peningkatan kadar superoxide dismutase (SOD) ⁵ .
2	Firdaus, Insanul Arfian, Nur Wahyuningsih, et al.	Aloe vera stimulate cell proliferation, cell migration, expression of <i>Vascular Endothelial Growth Factor-A</i> (VEGF-A), and c-Jun N-terminal kinase-1 (JNK-1) on fibroblast of diabetic rat models	Kultur sel primer fibroblast diisolasi dari kulit tikus diabetes dan diinkubasi dengan ekstrak Aloe vera.	Pada inkubasi selama 48 dan 72 jam, tidak terdapat perbedaan signifikan pada migrasi sel ($p > 0,05$). Ekspresi VEGF-A dan JNK-1 setelah inkubasi dengan AV500 selama 48 jam secara signifikan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$) ⁶ .

3	Budiman, Arif Khoerunnisa, Risris Alfauziah, Tazyinul	Wound-healing test of <i>Piper betle</i> leaf extract and aloe vera in gel preparation	Pada luka bakar tikus Wistar jantan, dioleskan gel dengan formulasi Carboxymethylcellulose (CMC) yang bervariasi	Formulasi gel yang mengandung ekstrak <i>Piper betle</i> (3% w/w) dan ekstrak Aloe vera (2% w/w), dengan tambahan CMC (Carboxymethylcellulose) 1,1% w/w, terbukti dapat mempercepat penyembuhan luka bakar. mendukung proses regenerasi kulit, mengurangi peradangan, dan mempercepat perbaikan jaringan di area luka bakar ⁷ .
4	Subiantoro, Andri Utariani, Arie Susilo, Imam.	Expression of <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (VEGF) and New Blood Vessels Formation on Wound Incision Post Ropivacaine Administration in Animal Model	24 tikus Wistar dibagi menjadi kelompok kontrol dan kelompok terapi ropivacaine, kemudian diberikan luka sayat. Tikus lalu dibagi menjadi kelompok hari ke-3 dan ke-7 untuk dianalisis	Pada hari ke-3, fase inflamasi awal, ekspresi VEGF pada kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol, yang menunjukkan percepatan dimulainya proses angiogenesis. Namun, pada hari ke-7, fase proliferasi, ekspresi VEGF pada kelompok perlakuan menurun dibandingkan kelompok kontrol, mencerminkan transisi menuju pembentukan jaringan yang lebih matang ⁸ .
5	Suharto, I.P.S., Ramayanti, E.D., & Yunalia, E.M., & Ulfa,	Betel Leaf Extract's Effect (Piper Batle Linn) on The Healing Process of Incision Wounds in Rats (<i>Rattus Norvegicus</i>)	Tikus secara acak dibagi menjadi 4 kelompok, kelompok kontrol, dosis 10%, 15%, dan 20%	Uji Kruskal Wallis menghasilkan nilai $p = 0,000$ ($\alpha < 0,05$), yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan dalam proses penyembuhan luka antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hasil ini menunjukkan bahwa dosis 20% adalah yang paling efektif dalam mempercepat penutupan luka. ⁹ .

6	Erna, Riani Wulan, Kartini Saleh, Mgs. Irsan.	The Effect of Aloe Vera Topical Gel Extraction on Tgf-B1 Expression in Thermal Burn Eyelid Grade II Rats Model	24 tikus yang sudah diinduksi luka bakar pada matanya dibagi jadi 4 kelompok, kelompok normal, kontrol negatif, Aloe vera 20% dan 40%. Analisis TGFβ1 dilakukan dengan aplikasi Image J.	Hasil penelitian menunjukkan peningkatan ekspresi TGF-β1 seiring dosis Aloe vera: normal (4,843), BSS (15,462), Aloe vera 20% (29,250), dan Aloe vera 40% (46,005). Peningkatan tertinggi ditemukan pada kelompok 40%, dengan perbedaan signifikan antar kelompok ($p < 0,05$). Aloe vera meningkatkan TGF-β1 yang berperan dalam angiogenesis, mendukung pembentukan pembuluh darah baru, dan mempercepat penyembuhan luka melalui peningkatan suplai oksigen dan nutrisi ke jaringan luka ¹⁰ .
7	Saleh, D.O., Baraka, S.M., Jaleel, G.A.A. <i>et al.</i> . .	Eugenol alleviates acrylamide-induced rat testicular toxicity by modulating AMPK/p-AKT/mTOR signaling pathway and blood-testis barrier remodeling	32 tikus Wistar jantan dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol, kelompok model, kelompok Eugenol 50 dan 100.	Penelitian ini menunjukkan bahwa eugenol melindungi sistem reproduksi pria dari kerusakan yang disebabkan oleh ACR dengan memelihara fungsi jaringan testis melalui jalur AMPK/p-AKT/mTOR, menjaga integritas BTB, dan memiliki efek anti-autofagi serta anti-apoptotik ¹¹ .
8	Xian M , Cai J , Zheng K , Liu Q , Liu Y , Lin H , Liang S , Wang S .	Aloe-emodin prevents nerve injury and neuroinflammation caused by	Hewan dibagi menjadi 6 kelompok terapi. Tikus diberi makan hingga mencapai 220	aloe-emodin (AE) dapat melindungi jaringan otak dari cedera iskemia-reperfusi dengan mengurangi stres oksidatif dan peradangan melalui aktivasi jalur PI3K/AKT/mTOR dan inhibisi

ischemic	g. Selanjutnya, jalur NF- κ B ¹²
stroke via the	selama 5 hari
PI3K/AKT/m	tikus
TOR and NF-	mendapatkan
κ B pathway	pengobatan
	oral

Penelitian ini memiliki pendalaman yang signifikan dibandingkan penelitian-penelitian sebelumnya, baik dari segi fokus, metode, maupun parameter yang dievaluasi. Penelitian ini menggabungkan ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn) dan Aloe vera sebagai kombinasi bahan alami yang dievaluasi secara ilmiah untuk mempercepat penyembuhan luka bakar derajat II. Kombinasi ini jarang dieksplorasi dalam penelitian sebelumnya, meskipun masing-masing bahan diketahui memiliki khasiat penyembuhan luka. Selain itu, penelitian ini tidak hanya menilai tanda-tanda klinis penyembuhan luka tetapi juga mengevaluasi mekanisme molekuler yang mendasarinya melalui pengukuran ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan angiopoietin-1. VEGF adalah faktor pertumbuhan utama yang merangsang pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis) pada luka, sementara angiopoietin-1 berperan dalam stabilisasi pembuluh darah baru yang terbentuk dan pengaturan fungsi vaskular. Evaluasi simultan kedua parameter ini memberikan pemahaman yang lebih holistik tentang proses angiogenesis yang mendukung regenerasi jaringan pada luka bakar.

Penelitian sebelumnya seperti Firdaus et al. (2019) hanya mengevaluasi efek Aloe vera terhadap ekspresi VEGF-A dan JNK-1

menggunakan RT-PCR pada fibroblas model diabetes, tetapi tidak mencakup angiopoietin-1 atau kombinasi dengan bahan alami lain. Penelitian oleh Budiman et al. (2018) mengamati efek kombinasi *Piper betle* dan Aloe vera pada luka bakar, tetapi evaluasinya terbatas pada tanda-tanda klinis seperti kemerahan, edema, dan eskar tanpa analisis biomolekuler. Sementara itu, penelitian Subiantoro et al. (2020) berfokus pada ekspresi VEGF dan pembentukan pembuluh darah baru pada luka insisi pasca-pemberian ropivacaine, tetapi tidak mencakup kombinasi bahan alami ataupun parameter tambahan seperti angiopoietin. Penelitian Suharto et al. (2021) mengevaluasi efek ekstrak daun sirih terhadap penyembuhan luka insisi, tetapi tanpa pengukuran molekuler seperti VEGF atau angiopoietin. Terakhir, penelitian Erna et al. (2022) mengevaluasi efek Aloe vera terhadap ekspresi TGF- β 1 pada luka bakar derajat II, namun tidak melibatkan kombinasi bahan alami maupun analisis VEGF dan angiopoietin.

Keunggulan utama dari penelitian ini adalah pendekatan integratif yang menggabungkan bahan alami dengan analisis mendalam terhadap mekanisme angiogenesis melalui ekspresi VEGF dan angiopoietin-1. Hal ini memberikan kontribusi ilmiah yang lebih komprehensif untuk memahami bagaimana kombinasi ekstrak daun sirih dan Aloe vera dapat mempercepat regenerasi jaringan melalui pembentukan dan stabilisasi vaskular. Dengan demikian, penelitian ini tidak hanya melengkapi literatur yang ada, tetapi juga memberikan landasan ilmiah baru untuk

pengembangan terapi berbasis kombinasi bahan alami pada luka bakar derajat II.

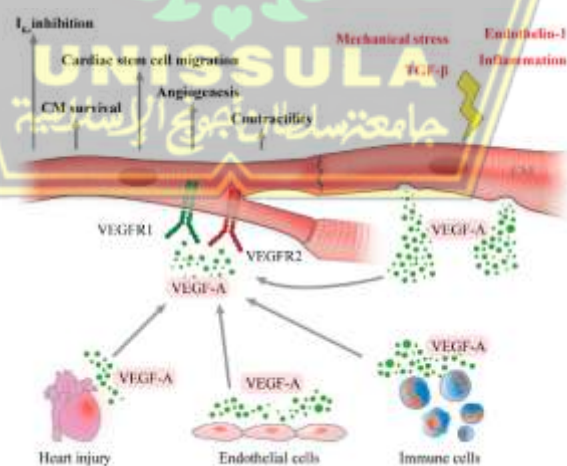


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Vascular Endothelial Growth Factors (VEGF)*

Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) adalah kelompok sitokin yang berperan sebagai regulator utama dalam angiogenesis dan limfangiogenesis, yaitu proses pembentukan pembuluh darah dan limfatik baru. Dalam tubuh mamalia, keluarga VEGF mencakup lima anggota utama: VEGF-A (yang sering disebut sebagai VEGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, dan *placental growth factor* (PlGF). Aktivitas VEGF dimediasi oleh interaksinya dengan tiga reseptor utama, yakni VEGFR-1, VEGFR-2, dan VEGFR-3, serta dua ko-reseptor *neuropilin* (NRP1 dan NRP2), yang bersama-sama mengatur berbagai proses fisiologis dan patologis¹³. Gambaran jalur VEGF dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 VEGF Pathway¹⁴

VEGF berfungsi sebagai mediator kunci dalam pembentukan pembuluh darah selama perkembangan embrio, regenerasi jaringan dalam penyembuhan luka, serta adaptasi pembuluh darah terhadap kondisi hipoksia. Di sisi lain, VEGF juga berkontribusi pada kondisi patologis, seperti pertumbuhan tumor, di mana ia mendukung angiogenesis tumor untuk menyediakan suplai oksigen dan nutrisi ¹³.

Konteks luka bakar, jalur VEGF/VEGFR menjadi salah satu target utama dalam pengembangan terapi untuk mempercepat penyembuhan dan mengatur angiogenesis yang efisien. Target pertama adalah interaksi protein/protein pada tingkat ekstraseluler, yaitu antara VEGF dan reseptornya (VEGFR) atau ko-reseptor neuropilin (NRP). Pada luka bakar, VEGF sering diekspresikan secara berlebihan pada tahap inflamasi untuk merangsang pembentukan pembuluh darah baru di area yang rusak. Namun, regulasi yang tidak terkendali dapat menyebabkan angiogenesis yang berlebihan, sehingga mengganggu pembentukan jaringan granulasi yang optimal dan memperburuk proses penyembuhan. Untuk menghambat interaksi ini, digunakan makromolekul besar seperti fragmen reseptor atau antibodi monoklonal, yang bertujuan mengontrol aktivitas VEGF dan mengurangi inflamasi vaskular tanpa sepenuhnya menghentikan pembentukan pembuluh darah baru yang diperlukan untuk penyembuhan ¹⁵.

Target kedua adalah domain intraseluler pada reseptor VEGF, khususnya pada *tyrosine kinase*, yang berfungsi mengatur sinyal hilir setelah VEGF berikatan dengan VEGFR. Pada luka bakar, aktivitas *tyrosine kinase* dapat

meningkat secara signifikan, yang memicu kaskade sinyal inflamasi dan angiogenik yang tidak seimbang. Molekul kecil seperti inhibitor tirosin kinase telah dikembangkan untuk menargetkan aktivitas enzim ini, membantu mengontrol proliferasi dan migrasi sel endotel pada luka bakar. Pendekatan ini penting untuk memastikan bahwa angiogenesis tetap pada tingkat yang mendukung pembentukan jaringan baru tanpa memicu efek samping seperti fibrosis atau edema vaskular yang berlebihan ¹⁵.

Pengobatan luka bakar dapat menghambat interaksi VEGF/VEGFR ekstraseluler yang berfungsi mengontrol respon awal dan mengatur sinyal intraseluler. Hal ini memastikan pembentukan pembuluh darah yang terkoordinasi, sehingga menghasilkan hasil yang lebih optimal. Pendekatan berbasis VEGF ini memungkinkan penyembuhan luka yang lebih cepat, pembentukan jaringan granulasi yang lebih sehat, dan mencegah komplikasi yang terkait dengan angiogenesis patologis. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengidentifikasi dosis yang tepat dan waktu terapi yang optimal guna mendukung penyembuhan luka bakar secara efisien.

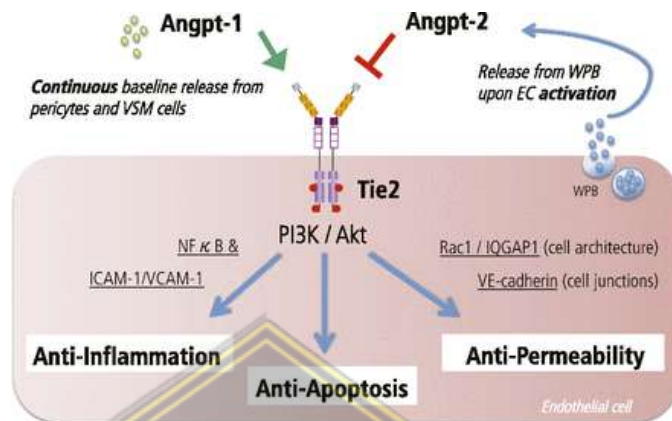
2.2. Angiopoietin

Angiopoietin adalah keluarga protein penting yang mengatur pembentukan, stabilisasi, dan fungsi pembuluh darah melalui interaksinya dengan reseptor Tie2, sebuah reseptor tirosin kinase spesifik pada sel endotel. Empat anggota utama dari keluarga ini adalah Angiopoietin-1 (Ang1), Angiopoietin-2 (Ang2), Angiopoietin-3 (Ang3), dan Angiopoietin-4 (Ang4). Dari keempatnya, Ang1

dan Ang2 adalah yang paling banyak dipelajari karena perannya yang berlawanan dalam mengatur angiogenesis dan stabilitas vascular¹⁶.

Ang1 adalah ligan agonis utama untuk reseptor Tie2. Ikatan Ang1 dengan Tie2 menginduksi fosforilasi tirosin pada reseptor tersebut, yang memicu aktivasi jalur sinyal intraseluler seperti jalur PI3K/Akt dan MAPK/ERK. Aktivasi jalur ini berperan dalam stabilisasi pembuluh darah melalui penguatan ikatan antara sel endotel dan perisit, pengurangan permeabilitas vaskular, dan penghambatan migrasi leukosit ke jaringan. Ang1 juga mendukung maturasi pembuluh darah, membantu pembentukan jaringan vaskular yang stabil dan fungsional selama perkembangan embrio dan regenerasi jaringan. Dalam konteks inflamasi, Ang1 memiliki sifat antiinflamasi karena kemampuannya mengurangi ekspresi molekul adhesi seperti ICAM-1 dan VCAM-1, yang menghambat perlekatan leukosit ke dinding pembuluh darah. Sebaliknya, Ang2 adalah ligan antagonis parsial untuk Tie2 yang bekerja sebagai regulator dinamis angiogenesis. Ang2 dapat mengikat Tie2 tanpa menginduksi fosforilasi, sehingga menyebabkan destabilisasi pembuluh darah, peningkatan permeabilitas, dan memfasilitasi respon angiogenik terhadap faktor lain seperti VEGF. Dalam kondisi patologis seperti kanker, Ang2 sering diekspresikan secara berlebihan di sekitar tumor dan pembuluh darah abnormal, yang memperburuk kebocoran vaskular, inflamasi, dan metastasis. Namun, pada konsentrasi tertentu atau dalam lingkungan spesifik, Ang2 juga dapat bertindak sebagai agonis Tie2, menunjukkan perannya yang kompleks dalam berbagai

konteks biologis¹⁶. Alur Ang1 dan Ang2 yang bekerja secara antagonis dapat dilihat melalui Gambar 2.2.



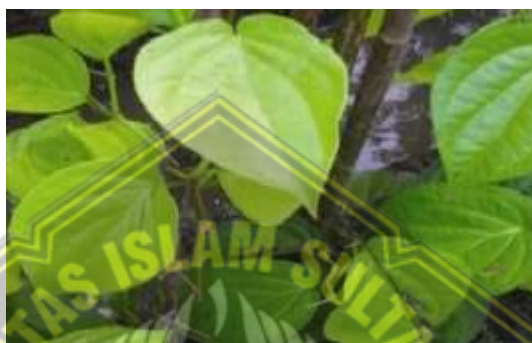
Gambar 2.2 Angiopoietin-Tie2 Pathway¹⁷

Keseimbangan antara Ang1 dan Ang2 sangat penting dalam pengaturan angiogenesis. Ang1 bekerja sinergis dengan VEGF untuk membentuk pembuluh darah baru yang stabil, sementara Ang2 bekerja sebagai antagonis Ang1 untuk memfasilitasi restrukturisasi vaskular dalam respon inflamasi atau hipoksia. Ketidakseimbangan antara Ang1 dan Ang2 telah dikaitkan dengan berbagai kondisi patologis seperti kanker, retinopati diabetik, dan penyakit inflamasi kronis.

2.3. Daun Sirih (*Piper betle*)

Daun sirih (*Piper betle* L.), tanaman herbal dari keluarga *Piperaceae*, dikenal luas di Indonesia dan berbagai negara Asia lainnya karena manfaat kesehatannya yang beragam. Tumbuhan ini telah lama menjadi bagian integral dari pengobatan tradisional serta budaya masyarakat di berbagai daerah di Indonesia. Penelitian ilmiah menunjukkan bahwa daun sirih mengandung berbagai senyawa bioaktif dengan efek farmakologis yang potensial. Misalnya,

senyawa fenolik seperti hidroksikavikol memiliki aktivitas antioksidan dan antimikroba; eugenol yang berfungsi sebagai analgesik alami dan antiseptik; serta flavonoid, tanin, dan saponin yang dikenal dengan sifat antioksidan, antijamur, dan perannya dalam meningkatkan kekebalan tubuh ¹⁸. Bentuk fisik daun sirih dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Daun Sirih (*Piper betle*)¹⁹

Klasifikasi Daun Sirih (*Piper betle*) :

Kingdom	:	<i>Plantae</i>
Clade	:	<i>Tracheophytes</i>
Clade	:	<i>Angiosperms</i>
Clade	:	<i>Magnoliids</i>
Order	:	<i>Piperales</i>
Family	:	<i>Piperaceae</i>
Genus	:	<i>Piper</i>
Species	:	<i>P. betle</i>

Komponen utama minyak atsiri daun sirih meliputi safrole (48.7%), chavibetol acetate (12.5%), allylpyrocate choldiacetate (34.0%), p-cymene, 4-

terpinol, eugenol, dan β -caryophyllene. Selain itu, terdapat pula golongan sesquiterpenes, cadinene, caryophyllene, safrole (52.7%), eugenyl acetate (5.8%), allylpyrocatecholdiacetate (15.4%), dan eugenol (6.4%)²⁰. Struktur kimia dari kandungan daun sirih dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Komponen phytochemical utama pada Ekstrak daun sirih dan minyak atsiri. (a) phytol; (b) 4-chromanol; (c) hydroxychavicol; (d) eugenol; (e) carvacrol; (f) chavicol; (g) chavibetol; (h) allylpyrocatechols²¹.

2.3.1. Daun sirih, VEGF & Angiopoietin-1

Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih (*Piper betle*) memiliki potensi untuk mencegah disfungsi endotel dengan cara menurunkan kadar asam urat darah dan ekspresi ICAM-1 pada endotel aorta tikus yang mengalami hiperurisemia. Meskipun penelitian ini tidak secara langsung mengukur kadar atau ekspresi VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), mekanisme yang diungkapkan melalui pengurangan kadar

asam urat dan ekspresi ICAM-1 memberi indikasi bahwa *Piper betle* dapat berperan dalam proses angiogenesis (pembentukan pembuluh darah baru) ²².

Penurunan ekspresi ICAM-1, yang merupakan biomarker disfungsi endotel, dapat memperbaiki fungsi endotelial yang terganggu, mendukung perbaikan mikro-sirkulasi, dan berpotensi meningkatkan pembentukan pembuluh darah baru. VEGF, sebagai faktor utama yang merangsang angiogenesis, dapat dipengaruhi oleh pengurangan stres oksidatif dan peradangan yang dihasilkan dari penurunan kadar asam urat. Eugenol, salah satu senyawa bioaktif utama dalam ekstrak daun sirih, dikenal memiliki sifat antioksidan dan anti-inflamasi, yang dapat berkontribusi pada peningkatan ekspresi VEGF dan mendukung proses angiogenesis yang sehat ²².

2.4. Aloe vera (*Aloe barbadensis*)

Aloe vera telah lama dimanfaatkan di Indonesia sebagai tanaman obat, khususnya dalam perawatan kulit, pengobatan luka bakar, dan gangguan pencernaan. Penelitian menunjukkan bahwa *Aloe vera* mengandung berbagai senyawa bioaktif, termasuk acemannan, aloe-emodin, aloin, flavonoid, dan saponin, yang memiliki sifat anti-inflamasi, antibakteri, dan mempercepat penyembuhan luka. Kandungan ini menjadikan *Aloe vera* populer dalam produk kosmetik dan perawatan kulit. Manfaat utamanya meliputi pemulihan luka pada kulit dan perbaikan fungsi pencernaan, berkat sifat anti-inflamasi dan regeneratifnya ². Bentuk fisik tumbuhan lidah buaya ini dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Aloe vera (*Aloe barbadensis*)²³

Klasifikasi Aloe vera (*Aloe barbadensis*)

Kingdom	:	Plantae
Clade	:	Tracheophytes
Clade	:	Angiosperms
Clade	:	Monocotyledons
Order	:	Asparagus
Family	:	Asphodelaceae
Genus	:	<i>Aloe</i>
Species	:	<i>A. vera</i>

Gel daun *Aloe vera* adalah bahan alami yang sebagian besar terdiri dari air, yaitu sekitar 98%, menjadikannya bahan yang sangat hidrasi untuk kulit dan jaringan tubuh. Meski kandungan airnya dominan, gel ini juga mengandung total padatan sebesar 0,66%, dengan padatan larut sebanyak 0,56%, yang dapat bervariasi tergantung musim. Polisakarida menjadi komponen utama, berperan penting dalam memberikan sifat imunomodulator, penyembuhan luka, dan

hidrasi kulit. Gula dan mineral di dalamnya mendukung aktivitas biologis seperti regenerasi jaringan dan pengaturan keseimbangan elektrolit. Selain itu, protein dan lipid berfungsi memperkuat struktur jaringan serta membantu mempercepat regenerasi sel. Aloe vera diketahui mengandung lebih dari 200 senyawa aktif, di antaranya vitamin (A, C, E, dan B12), enzim, lignin, saponin, asam salisilat, serta asam amino. Kandungan tersebut menjadikan Aloe vera memiliki sifat antiinflamasi, antimikroba, antioksidan, dan regeneratif, sehingga sangat bernilai dalam berbagai penggunaan di bidang kesehatan maupun kecantikan²⁴.

2.4.1. Aloe vera, VEGF & Kemampuan Angiogenesis

Aloe vera adalah tanaman obat yang telah digunakan secara tradisional untuk mengobati luka akut maupun kronis. Penerapan topikal Aloe vera dapat mempercepat proses penyembuhan luka dan berperan dalam semua tahap penyembuhan luka. Aloe vera tidak bersifat toksik dan dapat mendukung atau meningkatkan viabilitas sel epitel dan fibroblas.

Terdapat penelitian yang membahas bahwa tanaman ini mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti aloe emodin, β -sitosterol, dan acemannan, yang dapat merangsang produksi VEGF pada otak yang mengalami kerusakan akibat iskemia reperfusi pada gerbil Mongolia serta pada kultur sel fibroblas dari gingiva tikus. Pemberian oral Aloe vera diketahui secara signifikan dapat meningkatkan produksi TGF- β 1 dan bFGF pada luka akibat radiasi, mempercepat kontraksi luka, serta meningkatkan migrasi fibroblas dan sel endotel. Penelitian terdahulu bertujuan untuk

mengevaluasi pengaruh ekstrak etanol Aloe vera terhadap proliferasi sel, migrasi sel, serta ekspresi VEGF-A dan JNK-1 pada kultur sel fibroblas kulit tikus diabetes ⁶.

Penelitian lain menunjukkan bahwa Aloe vera gel memiliki potensi sebagai terapi herbal yang dapat meningkatkan penyembuhan luka pada diabetes dengan merangsang ekspresi VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*). Pemberian oral Aloe vera gel pada tikus Wistar diabetes mempercepat proses penyembuhan luka, yang terlihat dari penurunan diameter luka yang signifikan dan peningkatan jumlah CEC (*Circulating Endothelial Cells*). Terapi ini juga meningkatkan kadar VEGF dan eNOS (*Endothelial Nitric Oxide Synthase*) pada jaringan dermal, yang memainkan peran penting dalam proses angiogenesis (pembentukan pembuluh darah baru).

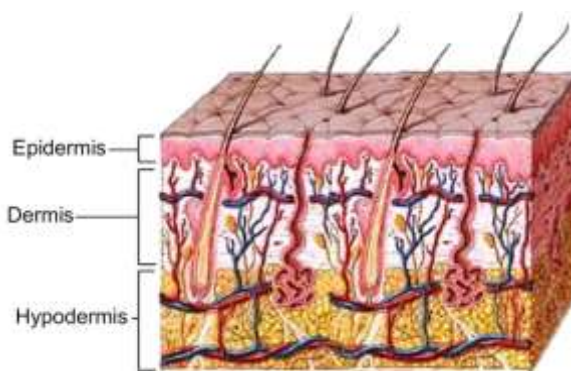
Hasil menunjukkan bahwa dosis optimal Aloe vera gel dalam mempercepat penyembuhan luka adalah antara 60-120 mg/hari, di mana dosis 120 mg/hari secara signifikan meningkatkan ekspresi VEGF dan jumlah EPCs (*Endothelial Progenitor Cells*), serta menurunkan jumlah CEC. Peningkatan VEGF ini menunjukkan bahwa Aloe vera dapat merangsang angiogenesis melalui mekanisme peningkatan produksi NO (*Nitric Oxide*) yang dihasilkan oleh aktivitas eNOS, yang pada gilirannya mendukung perbaikan sirkulasi darah dan pemulihan jaringan pada luka diabetes, dengan demikian, Aloe vera gel terbukti efektif dalam meningkatkan kadar VEGF, yang berkontribusi pada proses penyembuhan

luka melalui stimulasi angiogenesis dan peningkatan jumlah sel endotelial yang diperlukan untuk regenerasi pembuluh darah ²⁵.

Studi lain dengan pendekatan yang berbeda melalui sediaan oral didapatkan Aloe vera, yang mengandung senyawa aktif seperti β -sitosterol dan aloesin, telah terbukti dapat merangsang ekspresi VEGF melalui peningkatan mRNA VEGF, yang berkontribusi pada pembentukan pembuluh darah baru dan memperbaiki mikrosirkulasi pada luka. Penelitian juga menunjukkan bahwa Aloe vera dapat meningkatkan efektivitas transplantasi HUVECs (*Human Umbilical Vein Endothelial Cells*) dalam perbaikan angiogenesis pada luka diabetes, mempercepat regenerasi pembuluh darah dan meningkatkan aliran darah ²⁶.

2.5. Histologi Kulit

Kulit merupakan organ terbesar pada tubuh manusia dengan luas permukaan rata-rata mencapai sekitar 2 meter persegi pada orang dewasa. Organ ini tersusun atas tiga lapisan utama, yaitu epidermis, dermis, dan hipodermis. Pada lapisan-lapisan tersebut terdapat berbagai struktur penting, antara lain folikel rambut, kelenjar keringat, dan kelenjar sebacea, yang berperan dalam menjaga fungsi fisiologis kulit. Lapisan kulit ini dapat dilihat pada gambar 2.6.



Gambar 2.6 Epidermis, Dermis, Hipodermis²⁷.

Struktur-struktur yang terdapat pada lapisan kulit berfungsi sebagai sumber sel epitel, khususnya keratinosit, yang mampu berkembang biak serta bermigrasi menuju bekuan dan dasar luka untuk berperan dalam proses penyembuhan. Hilangnya fungsi kulit sebagai penghalang fisik memungkinkan masuknya mikroorganisme berbahaya, yang berpotensi menimbulkan infeksi hingga berkembang menjadi sepsis. Pada kasus luka bakar, proses perbaikan jaringan biasanya dimulai beberapa jam setelah cedera terjadi, namun dapat terganggu akibat kehilangan cairan dalam jumlah besar melalui luka tersebut. Bahkan luka bakar yang berukuran relatif kecil dapat menimbulkan dampak fungsional maupun estetik yang menetap sepanjang hidup penderita²⁸.

2.5.1. Epidermis

Epidermis terdiri dari empat hingga lima lapisan, yaitu stratum basale, spinosum, granulosum, lucidum (hanya ada pada telapak tangan dan kaki), dan corneum. Proses regenerasi keratinosit dimulai dari lapisan basal dan mencapai permukaan sebagai sel mati pada stratum corneum. Epidermis juga mengandung sel melanosit, yang menghasilkan melanin

dan memberikan pigmentasi pada kulit, serta sel Langerhans, yang berperan dalam imunitas kulit ²⁹.

1. ***Stratum korneum***, lapisan terluar ini terdiri atas sel-sel mati yang telah mengalami penggantian sitoplasma oleh keratin. Sel-sel ini pipih, tidak berinti, dan bertumpuk dalam banyak lapisan, berfungsi sebagai penghalang yang kuat untuk melindungi tubuh dari bahaya eksternal seperti patogen dan iritasi.
2. ***Stratum lusidum*** pada preparasi histologis, sering terlihat celah atau garis yang tampak memisahkan lapisan stratum korneum dari lapisan di bawahnya karena jumlah desmosom di stratum lusidum menurun, yang melemahkan adhesi antar sel dalam lapisan ini.
3. ***Stratum granulosum***, lapisan ini terdiri dari dua hingga empat lapis sel gepeng yang mengandung granula basofilik yang kaya akan keratohialin. Granula ini mempersiapkan sel untuk proses keratinisasi yang lebih lanjut, yang akan melindungi lapisan kulit dari kerusakan eksternal.
4. ***Stratum spinosum*** atau yang sering disebut sebagai lapisan taju, desmosom terlihat berfungsi mengikat sel-sel dengan erat satu sama lain, menciptakan jaringan ikat yang kuat. Seiring dengan peningkatan lapisan, sel-sel tersebut secara bertahap menjadi lebih gepeng, menyesuaikan dengan struktur lapisan atas.
5. ***Stratum basal***, aktivitas mitosis sel secara aktif berlangsung, di mana sel-sel baru dihasilkan untuk mendukung proses regenerasi epitel.

Proliferasi ini terjadi terus-menerus dan berperan penting dalam pembaharuan lapisan epidermis.

2.5.2. Dermis

Lapisan dermis terdiri atas dua bagian: dermis papiler yang lebih dekat ke epidermis dan mengandung kapiler serta ujung saraf, serta dermis retikular yang lebih dalam dan mengandung jaringan ikat padat serta struktur seperti kelenjar keringat dan folikel rambut. Dermis juga mengandung fibroblas, yang berperan dalam produksi kolagen dan elastin, dua protein penting untuk elastisitas dan kekuatan kulit ³⁰.

1. ***Stratum Papilaris*** tersusun secara longgar dengan jumlah papila dermis berkisar antara 50 dan 250 per mm². Papila dermis ini paling sering ditemukan di tempat yang paling tekanan, seperti telapak kaki. Sebagian besar papila mengandung kapiler yang memberikan nutrisi kepada epitel di atasnya, sementara papila lainnya mengandung korpuskel Meissner, yang berfungsi sebagai reseptor sensorik untuk mengidentifikasi sensasi yang dirasakan saat bersentuhan. Selain itu, serat kolagen di bawah epidermis tersusun dengan rapat, yang membantu menjaga struktur kulit tetap utuh.
2. ***Stratum Retikularis*** merupakan lapisan yang lebih tebal dan berada di bawah stratum papilaris. Jaringan padat yang tidak beraturan dibentuk pada lapisan ini oleh serat kolagen kasar dan sejumlah kecil serat elastin. Jalinan di bagian yang lebih dalam dari stratum retikularis lebih terbuka dan terdiri dari jaringan lemak, kelenjar

sebacea, kelenjar keringat, dan folikel rambut. Selain itu, serat otot polos dapat ditemukan di beberapa area, seperti di sekitar folikel rambut, skrotum, preputium, dan puting payudara. Serat otot rangka menembus jaringan ikat dermis pada kulit wajah dan leher, yang memungkinkan ekspresi wajah. Lapisan retikularis ini terhubung langsung dengan hipodermis atau fascia superfisial, yang kaya akan sel-sel lemak. Ini memberikan dukungan tambahan dan berfungsi sebagai insulasi termal.

2.5.3. Hipodermis

Hipodermis adalah lapisan terdalam dari kulit yang terletak di bawah dermis dan di atas otot. Lapisan ini berfungsi untuk menjaga kestabilan suhu tubuh, melindungi tubuh dari cedera mekanis, serta menjadi cadangan energi. Sel utama di dalam hipodermis adalah adiposit (sel lemak) yang tersusun dalam kelompok-kelompok kecil (lobulus) dan dipisahkan oleh jaringan ikat. Ketebalan hipodermis dapat bervariasi tergantung pada lokasi tubuh dan kondisi masing-masing individu, serta mencerminkan status gizi seseorang.

2.6. Luka Bakar

Luka bakar adalah cedera serius yang disebabkan oleh kontak kulit dengan sumber panas, yang dapat berasal dari berbagai faktor seperti suhu tinggi, listrik, gesekan, radiasi, dan bahan kimia. Setiap penyebab memiliki mekanisme kerusakan jaringan yang unik, tergantung pada sifat sumber panas atau bahan penyebab. Misalnya, luka bakar termal yang diakibatkan oleh cairan panas atau

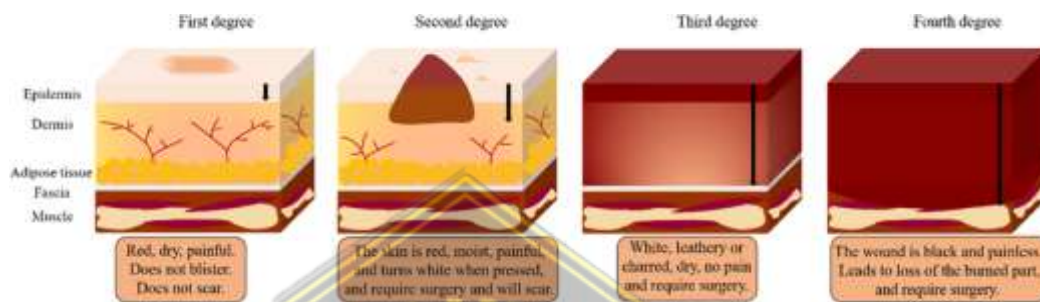
api sering menyebabkan kerusakan lapisan epidermis dan dermis secara langsung melalui denaturasi protein. Luka bakar listrik, di sisi lain, tidak hanya menyebabkan kerusakan pada titik masuk dan keluar arus tetapi juga dapat merusak jaringan internal di sepanjang jalur arus listrik. Sementara itu, luka bakar kimia dapat merusak jaringan melalui reaksi kimia agresif, menyebabkan kerusakan yang terus berlanjut hingga bahan kimia dinetralkan ²⁸.

Tingkat keparahan luka bakar ditentukan oleh luas permukaan tubuh yang mengalami cedera. Pada orang dewasa, luka bakar yang meliputi lebih dari 20% *Total Body Surface Area* (TBSA) dikategorikan sebagai kasus serius, sedangkan pada anak-anak, kondisi serupa sudah dianggap berat apabila mencakup lebih dari 10% TBSA. Kasus-kasus tersebut membutuhkan penanganan medis yang intensif untuk mencegah komplikasi lebih lanjut. Semakin luas area luka bakar, semakin besar risiko kehilangan cairan tubuh, ketidakseimbangan elektrolit, dan infeksi sistemik yang dapat meningkatkan mortalitas pasien. Selain itu, lokasi luka bakar juga memainkan peran penting. Luka bakar di area wajah, tangan, kaki, atau genital memiliki implikasi fungsional dan estetika yang lebih besar dibandingkan luka bakar di area lain ³¹.

Respons inflamasi akibat luka bakar dapat meluas ke seluruh tubuh, yang dikenal sebagai *Systemic Inflammatory Response Syndrome* (SIRS), berpotensi menyebabkan kegagalan organ multipel dan komplikasi serius lainnya. Oleh karena itu, manajemen luka bakar memerlukan pendekatan yang holistik, mencakup penanganan awal untuk mencegah infeksi, pengelolaan cairan tubuh,

operasi rekonstruktif, dan rehabilitasi jangka panjang untuk memastikan pemulihan yang optimal baik secara fisik maupun psikologis³².

Luka bakar dibagi menjadi beberapa tingkatan berdasarkan kedalaman kerusakannya, yang dapat dilihat pada Gambar 2. 7.



Gambar 2.7 Classification of Burn³³.

2.6.1. Luka Bakar Derajat 1

Luka bakar derajat 1 adalah bentuk luka bakar paling ringan yang hanya memengaruhi lapisan epidermis, yaitu lapisan terluar kulit. Kondisi ini biasanya ditandai dengan kemerahan atau eritema yang disebabkan oleh pelebaran pembuluh darah di area yang terkena, sebagai bagian dari respons inflamasi awal tubuh. Gejala lain yang sering muncul meliputi rasa nyeri yang disebabkan oleh stimulasi ujung saraf di epidermis serta sensasi panas pada kulit. Tidak adanya lepuh pada luka bakar derajat 1 menjadi ciri khasnya, karena kerusakan tidak cukup dalam untuk menyebabkan cairan terperangkap di bawah epidermis. Meski menimbulkan ketidaknyamanan, kerusakan pada jenis luka bakar ini bersifat superfisial, sehingga tidak menyebabkan perubahan permanen pada struktur kulit³⁴.

2.6.2. Luka Bakar Derajat 2

Luka bakar dengan kedalaman Superfisial Parsial (*Superficial Partial-Thickness*) melibatkan kerusakan pada lapisan epidermis dan bagian atas dermis. Pada jenis luka ini, lepuh sering terlihat di area yang terbakar, menandakan adanya cairan yang terperangkap akibat kerusakan pembuluh darah kecil di dermis. Kulit yang terbakar tampak merah cerah dan basah karena sisa pembuluh darah di area tersebut masih utuh. Sensitivitas terhadap sentuhan tetap ada karena ujung-ujung saraf di dermis belum mengalami kerusakan total. Hal ini menjadikan luka ini sangat nyeri saat disentuh atau terpapar udara. Jenis luka bakar ini umumnya memiliki prognosis yang baik jika ditangani dengan tepat, karena kemampuan regenerasi epidermis dari lapisan basal dermis masih cukup tinggi.

2.6.3. Luka Bakar Derajat 3

Luka bakar derajat III, yang juga disebut sebagai luka bakar tebal penuh (*full-thickness burn*), merupakan bentuk luka bakar paling parah. Cedera ini menyebabkan kerusakan menyeluruh pada lapisan kulit, mencakup epidermis dan dermis, serta berpotensi meluas hingga jaringan subkutan. Pada kasus yang berat, kerusakan bahkan dapat mencapai jaringan lemak, otot, atau tulang. Pada luka bakar ini, kulit yang terkena sering kali tampak putih pucat, hitam, kecoklatan, atau berkerak akibat koagulasi protein di jaringan. Dalam beberapa kasus, kulit terlihat kering dan keras, membentuk lapisan seperti kulit kayu yang disebut *eschar*.

Tidak adanya rasa nyeri di area luka bakar merupakan tanda khas dari kerusakan ujung saraf, meskipun jaringan di sekitar luka yang tidak rusak mungkin masih terasa sangat nyeri.

Luka bakar derajat III juga membawa risiko komplikasi sistemik yang signifikan. Kehilangan cairan melalui luka terbuka dapat menyebabkan dehidrasi berat dan syok hipovolemik. Selain itu, area yang luas dari luka bakar dapat memicu respons inflamasi sistemik, dikenal sebagai *Systemic Inflammatory Response Syndrome* (SIRS), yang berpotensi menyebabkan kerusakan organ multipel. Infeksi adalah ancaman serius lainnya karena kulit sebagai penghalang alami tubuh telah hilang, memberikan akses mudah bagi mikroorganisme untuk masuk³¹.

2.7. Patomekanisme dan Penyembuhan Luka Bakar Derajat II

Proses penyembuhan luka bakar derajat II melibatkan serangkaian langkah fisiologis yang kompleks yang terjadi dalam empat fase berturut-turut, namun tumpang tindih. Keempat fase tersebut adalah hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodelling. Masing-masing fase memiliki karakteristik dan mekanisme yang sangat penting untuk pemulihan jaringan dan pemulihan fungsi kulit yang terkena luka bakar. Di bawah ini adalah penjelasan yang lebih mendalam mengenai patomekanisme penyembuhan luka bakar derajat II^{35,36}.

2.7.1. Fase Hemostasis (0–Beberapa Jam Setelah Cedera)

Fase hemostasis merupakan tahap awal yang terjadi segera setelah luka bakar. Pada luka bakar derajat II, yang umumnya melibatkan kerusakan

pada epidermis dan sebagian lapisan dermis, tubuh secara cepat berupaya menghentikan perdarahan serta meminimalkan kehilangan cairan ³⁵.

Proses Hemostasis meliputi :

- **Vasokonstriksi:** Setelah luka bakar terjadi, pembuluh darah yang rusak akan mengalami vasokonstriksi (penyempitan pembuluh darah) untuk mengurangi perdarahan.
- **Formasi Trombus:** Platelet (trombosit) diaktifkan dan berkumpul di tempat cedera, membentuk trombus (gumpalan darah) yang menyegel luka dan menghentikan perdarahan. Trombosit ini juga melepaskan faktor pertumbuhan yang merangsang proses penyembuhan.
- **Pelepasan Mediator Kimia:** Platelet dan sel endotelial melepaskan faktor pertumbuhan seperti PDGF (*Platelet-Derived Growth Factor*), yang merangsang migrasi dan proliferasi sel-sel penyembuh, seperti fibroblas dan sel epitel.

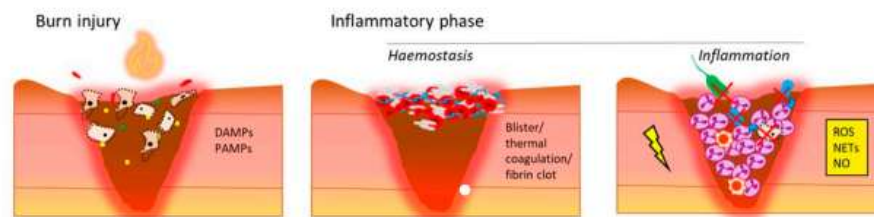
Proses hemostasis berlangsung dalam beberapa jam pertama setelah cedera dan sangat penting untuk memulai fase inflamasi ³⁶.

2.7.2. Fase Inflamasi (1–3 Hari Setelah Cedera)

Fase inflamasi dimulai segera setelah hemostasis, dan bertujuan untuk membersihkan luka dari kuman, debris seluler, dan jaringan mati, serta untuk memulai perbaikan jaringan. Pada luka bakar derajat II, inflamasi berlangsung dalam waktu 1–3 hari dan melibatkan berbagai jenis sel imun ³⁵. Proses inflamasi meliputi :

- **Vasodilatasi:** Setelah vasokonstriksi awal, pembuluh darah mengalami vasodilatasi (pelebaran) untuk meningkatkan aliran darah ke area luka. Proses ini didorong oleh mediator kimia seperti histamin, bradikinin, dan prostaglandin.
- **Peningkatan Permeabilitas Pembuluh Darah:** Pembuluh darah yang lebih lebar memungkinkan sel-sel imun, seperti neutrofil dan makrofag, untuk masuk ke daerah luka. Neutrofil pertama-tama menghilangkan mikroorganisme atau debris seluler melalui fagositosis.
- **Fungsi Makrofag:** Makrofag berperan ganda dalam fase ini. Mereka tidak hanya memfagositosis debris seluler, tetapi juga merangsang proses penyembuhan dengan melepaskan berbagai sitokin (misalnya, IL-1, TNF- α) yang merangsang proliferasi sel, angiogenesis, dan sintesis kolagen. Makrofag juga berperan dalam resolusi inflamasi dengan membersihkan mediator inflamasi.
- **Pembentukan Edema:** Pembengkakan pada luka bakar disebabkan oleh peningkatan permeabilitas pembuluh darah, yang memungkinkan cairan dan protein, seperti albumin dan fibrinogen, keluar ke ruang ekstraseluler dan menyebabkan edema.

Fase inflamasi berfokus pada pembersihan luka dan menyiapkan daerah tersebut untuk fase berikutnya (proliferasi). Gambaran Fase Hemostasis dan Inflamasi dapat dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Fase Hemostasis dan Inflamasi Luka Bakar³⁷

2.7.3. Fase Proliferasi (4–21 Hari Setelah Cedera)

Pada fase proliferasi, tubuh mulai membangun kembali jaringan yang hilang dengan pembentukan jaringan granulasi yang kaya akan fibroblas, pembuluh darah baru (angiogenesis), dan kolagen. Fase ini bertujuan untuk menggantikan jaringan yang rusak dengan jaringan yang baru dan fungsional³⁵. Proses proliferasi meliputi :

- **Angiogenesis:** Faktor pertumbuhan, seperti *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), berperan dalam merangsang proses angiogenesis atau pembentukan pembuluh darah baru. Mekanisme ini bertujuan untuk memastikan suplai oksigen dan nutrisi yang memadai pada jaringan yang sedang mengalami proses regenerasi. Pembuluh darah baru ini penting untuk mendukung jaringan yang sedang diperbaiki.
- **Migrasi Keratinosit:** Sel-sel keratinosit dari pinggir luka bermigrasi dan berproliferasi untuk menutupi permukaan luka. Mereka membentuk lapisan epitel baru yang menutupi luka.
- **Sintesis Kolagen:** Fibroblas di dalam jaringan granulasi mulai memproduksi kolagen, terutama kolagen tipe III. Kolagen ini

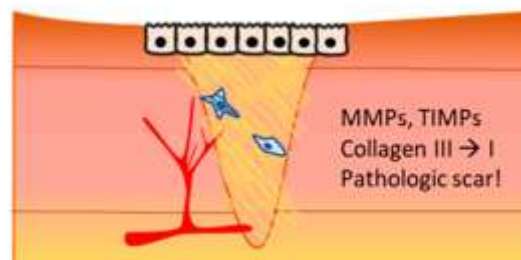
membentuk dasar dari jaringan yang sedang diperbaiki dan memberikan kekuatan dan struktur pada jaringan tersebut.

- **Pembentukan Jaringan Granulasi:** Jaringan granulasi adalah jaringan baru yang berwarna merah muda, kaya akan pembuluh darah baru, fibroblas, dan kolagen tipe III. Jaringan ini mengisi bagian bawah luka dan mendukung pembentukan epitel baru.

Fase proliferasi berlangsung sekitar 4 hingga 21 hari setelah cedera, tergantung pada ukuran dan kedalaman luka bakar.

2.7.4. Fase Remodelling (21 Hari–1 Tahun Setelah Cedera)

Fase remodelling merupakan tahap akhir dalam proses penyembuhan luka bakar yang dapat berlangsung hingga satu tahun atau lebih. Pada fase ini, jaringan yang terbentuk selama fase proliferasi mengalami pematangan sehingga menjadi lebih kuat dan elastis. Meskipun kolagen tipe III digantikan oleh kolagen tipe I, jaringan parut yang dihasilkan umumnya tidak memiliki ketahanan setara dengan kulit normal³⁵. Penjelasan dapat dilihat pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9 Fase Remodelling³⁷

- **Pematangan Kolagen:** Pada fase proliferasi, kolagen tipe III yang awalnya terbentuk secara bertahap digantikan oleh kolagen tipe I.

Kolagen tipe I memiliki sifat lebih kuat dan lebih tahan lama, sehingga memberikan dukungan struktural yang penting bagi jaringan baru yang sedang berkembang.

- **Pengaturan Struktur Jaringan:** Fibroblas dan sel lainnya berperan dalam pematangan dan pengaturan ulang kolagen. Sel-sel ini menyusun ulang kolagen dalam pola yang lebih terorganisir, memperbaiki kestabilan dan elastisitas jaringan.
- **Pengurangan Jaringan Parut:** Selama remodelling, jaringan parut berkurang volume dan mengeras. Jaringan parut pada luka bakar derajat II mungkin lebih elastis dibandingkan dengan luka bakar derajat III, tetapi tetap ada kemungkinan terbentuknya jaringan parut hipertrofik atau keloid, terutama jika ada faktor predisposisi genetik atau ketegangan mekanis pada luka. Jaringan yang terbentuk di akhir fase remodelling biasanya tidak kembali ke kondisi semula, tetapi kemampuan kulit untuk mempertahankan fungsi dasar seperti perlindungan terhadap patogen dan pengaturan suhu biasanya dipulihkan^{38,39}.

2.8. Angiogenesis

Angiogenesis adalah proses biologis pembentukan pembuluh darah baru dari jaringan vaskular yang sudah ada sebelumnya. Proses ini memainkan peran penting dalam berbagai kondisi fisiologis, termasuk perkembangan embrio, penyembuhan luka, dan siklus menstruasi. Namun, angiogenesis juga terlibat dalam berbagai kondisi patologis, seperti pertumbuhan tumor, penyakit

kardiovaskular, dan gangguan inflamasi kronis. Mekanisme angiogenesis melibatkan tahapan kompleks yang saling berkesinambungan. Proses ini diawali dengan inisiasi, di mana rangsangan pro-angiogenik seperti hipoksia atau sinyal dari faktor pertumbuhan memicu pelepasan molekul kunci seperti *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan angiopoietin. Selanjutnya, degradasi matriks ekstraseluler (ECM) oleh enzim proteolitik seperti matriks metalloproteinase (MMP) menciptakan ruang dan jalur bagi migrasi sel endotel. Pada tahap berikutnya, terjadi proliferasi dan migrasi sel endotel, yang dipandu oleh gradien konsentrasi faktor pertumbuhan menuju area yang membutuhkan pembuluh darah baru. Sel-sel ini kemudian membentuk struktur tubular kapiler, yang menjadi lumen dari pembuluh darah baru. Tahapan akhir adalah maturasi dan stabilisasi, di mana perisit dan sel otot polos vaskular direkrut untuk memperkuat dan memastikan integritas struktural serta fungsional pembuluh darah ⁴⁰.

Salah satu jalur yang berperan dalam angiogenesis yaitu jalur PI3K/AKT/mTOR. Aktivasi P3K/AKT dapat meningkatkan ekspresi sekresi VEGF dan memodulasi ekspresi faktor angiogenesis lain seperti Nitrogen Monoksida dan Angiopoietin. Adanya hambatan dalam jalur ini dapat mengganggu sekresi VEGF dan angiopoietin sehingga turut berpengaruh dalam proses angiogenesis ⁴¹.

Regulasi angiogenesis bergantung pada keseimbangan antara faktor pro-angiogenik dan anti-angiogenik. VEGF merupakan faktor pro-angiogenik utama yang merangsang proliferasi dan migrasi sel endotel, sementara

trombospondin-1 dan angiostatin menjadi contoh faktor anti-angiogenik yang menghambat pembentukan pembuluh darah baru. Ketidakseimbangan antara kedua jenis faktor ini dapat menyebabkan gangguan patologis. Misalnya, dalam kasus kanker, tumor memanfaatkan mekanisme angiogenesis untuk menciptakan suplai darah baru yang mendukung pertumbuhan dan metastasis. Hal ini dilakukan dengan meningkatkan ekspresi VEGF dan menghambat faktor anti-angiogenik ⁴².

Konteks terapi, strategi anti-angiogenik telah dikembangkan untuk menghambat pertumbuhan tumor. Salah satu pendekatan adalah penggunaan bevacizumab, antibodi monoklonal yang menargetkan VEGF. Meski terapi ini menunjukkan efektivitas pada beberapa kasus, hambatan seperti resistensi dan adaptasi tumor sering kali membatasi hasil klinis. Oleh karena itu, diperlukan pemahaman lebih dalam mengenai mekanisme angiogenesis, termasuk jalur alternatif seperti sprouting angiogenesis, vasculogenic mimicry, dan vessel co-option. Jalur ini menjadi fokus penelitian terbaru karena potensi terapi yang lebih efektif dalam mengendalikan angiogenesis patologis ⁴⁰.

Studi terbaru menyoroti peran regulasi epigenetik dalam angiogenesis. Modifikasi epigenetik seperti metilasi DNA dan modifikasi histon dapat mempengaruhi ekspresi gen terkait angiogenesis, membuka peluang baru untuk intervensi terapeutik. Terapi berbasis epigenetik menawarkan keunggulan dengan menargetkan akar penyebab regulasi abnormal, dibandingkan hanya menghambat satu faktor tertentu seperti VEGF ⁴³.

Angiogenesis adalah proses yang sangat dinamis dan kompleks, dengan implikasi signifikan dalam kesehatan dan penyakit. Pemahaman menyeluruh tentang mekanisme dan regulasi angiogenesis tidak hanya memberikan wawasan tentang biologi dasar, tetapi juga membuka jalan untuk terapi yang lebih efektif pada berbagai kondisi patologis, termasuk kanker, gangguan inflamasi, dan penyakit vaskular lainnya.

2.9. Sediaan Gel

Gel didefinisikan sebagai sistem koloid yang terdiri dari dua fase: fase cair yang terperangkap dalam jaringan padat. Sediaan gel memiliki kelebihan seperti pelepasan obat yang terkontrol, kemudahan aplikasi topikal, dan kenyamanan penggunaan. Gel sendiri terbagi menjadi beberapa jenis, seperti gel hidrofilik, gel lipofilik, serta gel in situ. Gel hidrofilik merupakan gel yang memiliki kandungan air sebagai fase cair dan sering dipakai untuk pelembab dan luka bakar. Sebaliknya, Gel lipofilik memiliki kandungan bahan minyak atau lipofilik sebagai fase cair, seperti contohnya gel salep antiinflamasi. Sementara itu, Gel in situ adalah gel yang terbentuk setelah diaplikasikan pada tubuh^{44,45}.

2.9.1. Penggunaan Gel untuk pengobatan luka bakar

Gel merupakan salah satu sediaan yang sering kali digunakan dalam penanganan luka bakar. Gel hidrofilik, atau bisa disebut juga hidrogel dapat menjaga kelembapan pada luka serta menyerap eksudat atau cairan berlebih dari luka sehingga bisa mempercepat proses penyembuhan. Hidrogel juga mudah

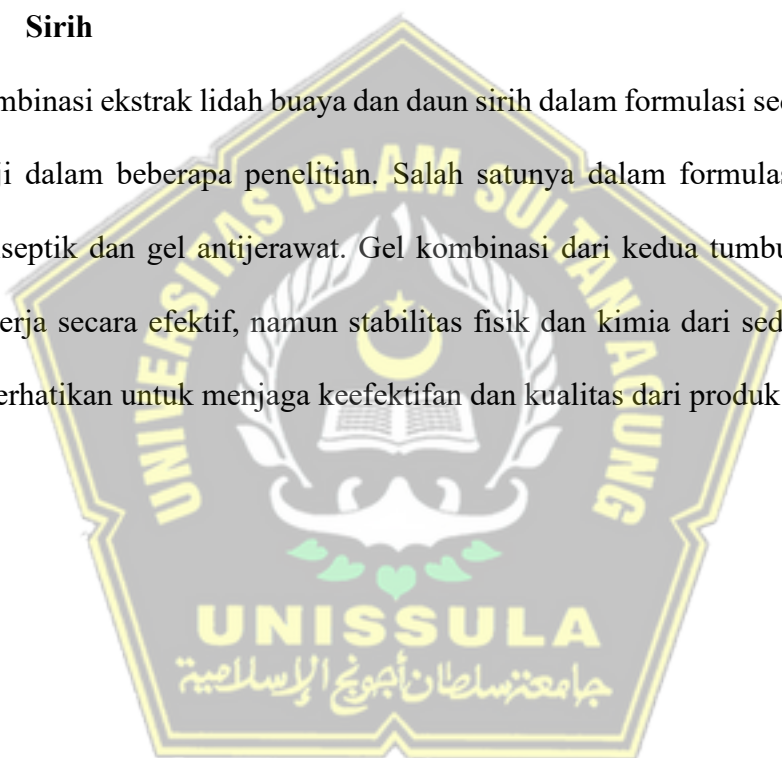
diaplikasikan pada area luka dan bersifat transparan sehingga memudahkan dalam memantau perkembangan penyembuhan luka bakar⁴⁶.

Hydrogel juga memiliki kemampuan untuk menempel pada jaringan luka tanpa menyebabkan iritasi dan dapat memberi perlindungan terhadap infeksi jika memiliki kandungan bahan aktif antibakteri.

2.9.2. Formulasi Gel yang mengandung ekstrak Lidah Buaya dan Daun

Sirih

Kombinasi ekstrak lidah buaya dan daun sirih dalam formulasi sediaan gel telah diuji dalam beberapa penelitian. Salah satunya dalam formulasi sebagai gel antiseptik dan gel antijerawat. Gel kombinasi dari kedua tumbuhan ini dapat bekerja secara efektif, namun stabilitas fisik dan kimia dari sediaan gel perlu diperhatikan untuk menjaga keefektifan dan kualitas dari produk gel^{47,48}.



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori

Pada kondisi luka bakar, berbagai *growth factors* (faktor pertumbuhan), *cytokines* (sitokin), dan molekul penting lainnya dilepaskan oleh fibroblast dalam jaringan granulasinya. Molekul-molekul ini memiliki peran penting dalam proses penyembuhan luka, terutama dalam proliferasi dan migrasi keratinosit yang membentuk lapisan epidermis kulit yang baru. Beberapa faktor yang terlibat antara lain EGF (*Epidermal Growth Factor*), KGF (*Keratinocyte Growth Factor*), TGF- β (*Transforming Growth Factor Beta*), VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), dan *Fibroblast Growth Factors* yang merangsang keratinosit untuk berkembang biak dan bergerak melintasi luka untuk menutupnya, hal ini terjadi pada hari ke 5-20 setelah cedera ⁴⁹.

Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), sangat penting untuk perkembangan vaskular normal dan homeostasis. VEGF memainkan peran yang sangat penting dalam proses angiogenesis, yaitu pembentukan pembuluh darah baru yang vital untuk menjaga suplai oksigen dan nutrisi ke jaringan tubuh. Proses ini sangat penting dalam fisiologi normal, seperti dalam perkembangan embrionik, pemulihan luka.

Pada luka bakar, kadar VEGF dan Ang-1 sering terjadi penurunan yang disebabkan oleh kondisi parsial seperti kondisi imun, kapasitas antioksidan, yang dapat memperlambat proses penyembuhan akibat kurangnya pembentukan pembuluh darah baru. Kehilangan sinyal VEGF dapat menyebabkan cacat vaskular⁵⁰.

Jalur PI3K/Akt/mTOR diperlukan untuk berbagai fungsi seluler dan organ, termasuk kelangsungan hidup, proliferasi, metabolisme, dan homeostasis, dan juga berperan dalam mengatur angiogenesis. mTOR, sebuah serin-treonin kinase, mengikat beberapa protein subunit dan membentuk dua kompleks fungsional, mTOR kompleks 1 (mTORC1) yang mengandung mTOR dan RAPTOR, serta mTOR kompleks 2 (mTORC2) yang mengandung mTOR dan RICTOR⁵⁰.

Terdapat interaksi kompleks antara PI3K, AKT, mTORC1, dan mTORC2. PI3K/Akt menghambat kompleks sklerosis tuberosa (TSC), yang merupakan penekan mTORC1, dan dengan demikian mengaktifkan mTORC1. Sementara itu, Akt diaktifkan oleh mTORC2, yang mengarah pada aktivasi mTORC1. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa pertumbuhan sel endotelial dan pembentukan struktur pembuluh darah (Angiogenesis) terganggu oleh gangguan farmakologis atau genetik pada sinyal jalur mTOR. Ketika rangsangan angiogenik, seperti hipoksia terjadi, ekspresi gen VEGF diinduksi oleh faktor transkripsi hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α), yang menyebabkan angiogenesis. mTORC1 mendorong sintesis HIF-1 α . Akt juga berperan dalam aktivasi endothelial NOS, yang menghasilkan NO. Setelah itu,

mTORC2 berperan dalam induksi VEGF dan NO dan pada akhirnya merangsang angiogenesis⁵⁰.

VEGF, kelas faktor pertumbuhan lain yang memiliki aktivitas angiogenik termasuk angiopoietin dan reseptornya, terutama sistem ANG1/TIE2. Angiopoietin 1 dan 2 (ANG1 dan ANG2) mengikat reseptor tirosin kinase TIE2, yang terutama diekspresikan pada sel endotel. Sementara ANG1 diperlukan untuk perkembangan endotelial, ANG2 bertindak sebagai antagonis sistem ANG1/TIE2 dan dapat mengganggu pembentukan pembuluh darah. ANG1 dapat mempromosikan kelangsungan hidup sel endotel melalui aktivasi jalur PI3K. ANG1 telah terbukti merangsang fosforilasi TIE2, AKT, dan eNOS pada HUVECs dengan cara yang bergantung pada PI3K. Penelitian lain melaporkan bahwa ikatan HSP90 dengan eNOS dan aktivasi jalur PI3K berkontribusi pada fosforilasi eNOS yang dimediasi oleh ANG1, produksi NO, dan angiogenesis pada sel endotel arteri koroner. Tikus yang kekurangan subunit katalitik p110 α dari PI3K menunjukkan cacat vaskular dengan penurunan kadar protein TIE2. ANG1 dapat menginduksi lokalisasi TIE2 ke kontak sel-sel endotel, namun pada sel yang terisolasi, TIE2 dilokalisasi ke kontak sel-substratum. Aktivasi TIE2 pada kontak sel-sel mengarah pada aktivasi AKT, yang mengarah pada fosforilasi eNOS¹.

Aktivasi jalur ini diharapkan membantu perbaikan proses-proses seluler penting seperti proliferasi dan kelangsungan hidup sel, serta modifikasi ekspresi protein yang terlibat dalam regulasi angiogenesis. Namun, dalam kondisi patologis seperti luka bakar derajat II, regulasi yang tidak tepat dari jalur ini

dapat menyebabkan pembentukan pembuluh darah yang tidak teratur, meningkatkan permeabilitas vaskular, dan menghambat proses penyembuhan luka. Oleh karena itu, pemahaman mendalam tentang VEGF dan ANG1/TIE2 serta interaksinya dengan jalur PI3K/AKT/mTOR dapat membantu dalam pengembangan terapi yang lebih efektif untuk mempercepat penyembuhan luka bakar dan mengatur angiogenesis yang sehat pada jaringan yang rusak.

Faktor-faktor seperti lingkungan, genetika, umur, status gizi, dan jenis kelamin berperan sebagai variabel perancu yang memengaruhi proses penyembuhan luka bakar. Meskipun faktor-faktor ini tidak memengaruhi luka bakar secara langsung, mereka dapat memengaruhi status imun dan kapasitas antioksidan tubuh. Misalnya, lingkungan yang kotor atau terpapar polusi dapat meningkatkan risiko infeksi, sementara faktor genetik mempengaruhi kemampuan regenerasi jaringan. Umur memengaruhi fungsi sistem kekebalan dan regenerasi sel, sedangkan status gizi yang baik penting untuk mendukung pembentukan kolagen dan angiogenesis. Jenis kelamin juga dapat memengaruhi penyembuhan melalui perbedaan hormon, seperti estrogen yang mendukung angiogenesis. Oleh karena itu, pemahaman terhadap faktor-faktor ini penting dalam menentukan terapi yang tepat,

Ekstrak Aloe vera dapat meningkatkan proliferasi dan migrasi sel fibroblas, serta menstimulasi ekspresi VEGF-A (*Vascular Endothelial Growth Factor-A*) secara signifikan. Dalam penelitian terdahulu, zat aktif β -sitosterol yang terkandung dalam Aloe vera ditemukan sebagai factor angiogenik potensial dan dapat meningkatkan ekspresi VEGF-A. VEGF-A berperan penting dalam

proses angiogenesis, yang memfasilitasi pembentukan pembuluh darah baru. Peningkatan ekspresi VEGF-A menunjukkan bahwa Aloe vera memiliki potensi dalam mendukung proses penyembuhan luka pada kondisi diabetes, yang berhubungan dengan kemampuan angiogenik dan regenerasi jaringan.

Sementara itu, ekstrak daun sirih (*Piper betle*) juga telah terbukti dapat meningkatkan penyembuhan luka bakar pada tikus Swiss. Meskipun penelitian ini tidak secara eksplisit mengukur ekspresi VEGF-A atau angiopoetin, penggunaan ekstrak daun sirih dalam terapi luka menunjukkan potensi dalam mendukung proses penyembuhan luka, yang kemungkinan melibatkan faktor-faktor angiogenik seperti VEGF-A serta Angiopoetin-1⁵¹.

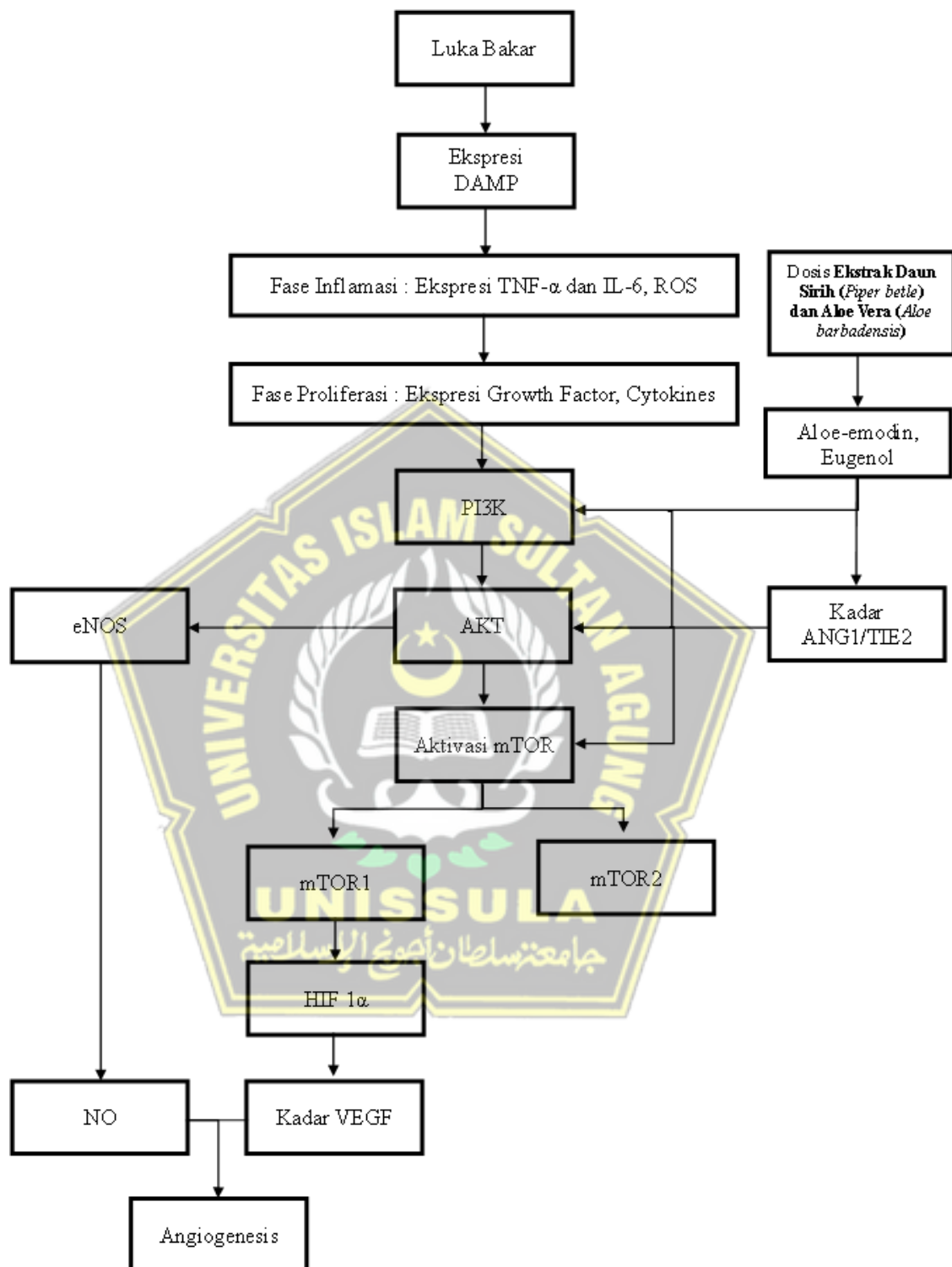
Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih (*Piper betle*) memiliki potensi untuk mencegah disfungsi endotel dengan cara menurunkan kadar asam urat darah dan ekspresi ICAM-1 pada endotel aorta tikus yang mengalami hiperurisemia. Meskipun penelitian ini tidak secara langsung mengukur kadar atau ekspresi VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), mekanisme yang diungkapkan melalui pengurangan kadar asam urat dan ekspresi ICAM-1 memberi indikasi bahwa *Piper betle* dapat berperan dalam proses angiogenesis (pembentukan pembuluh darah baru)²².

Penurunan ekspresi ICAM-1, yang merupakan biomarker disfungsi endotel, dapat memperbaiki fungsi endotelial yang terganggu, mendukung perbaikan mikro-sirkulasi, dan berpotensi meningkatkan pembentukan pembuluh darah baru. VEGF, sebagai faktor utama yang merangsang angiogenesis, dapat dipengaruhi oleh pengurangan stres oksidatif dan peradangan yang dihasilkan

dari penurunan kadar asam urat. Eugenol, salah satu senyawa bioaktif utama dalam ekstrak daun sirih, dikenal memiliki sifat antioksidan dan anti-inflamasi, yang dapat berkontribusi pada peningkatan ekspresi VEGF dan mendukung proses angiogenesis yang sehat ²².

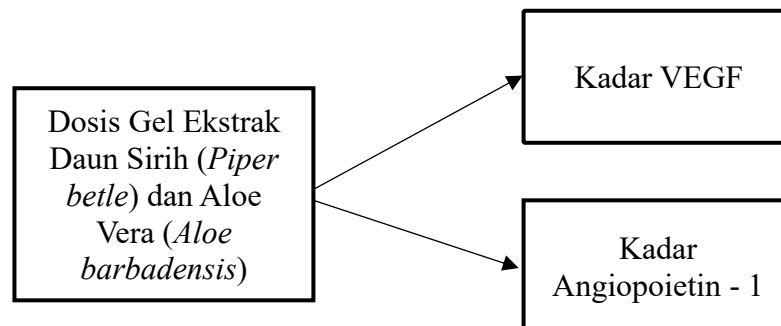
Penggunaan bahan alami seperti ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dengan eugenol dan Aloe Vera (*Aloe barbadensis*) dengan aloe emodin memiliki potensi besar. Kombinasi kedua bahan ini diharapkan memiliki efek sinergis dalam mempercepat angiogenesis melalui mekanisme antiinflamasi, stimulasi sel endotel, dan stabilisasi pembuluh darah baru.





Gambar 3.1 Kerangka Teori

3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis Penelitian

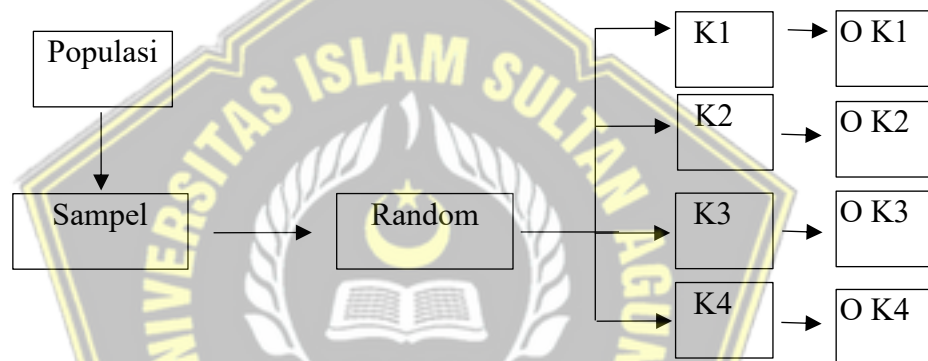
Dosis gel ekstrak kombinasi daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) berpengaruh terhadap proses penyembuhan luka dan dapat meningkatkan kadar *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan Angiopoietin-1 pada jaringan luka bakar derajat II.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vivo* yang digunakan adalah metode *Post Test Only Control Group Design* yang menggunakan objek penelitian tikus jantan galur wistar.



Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

- a. K1 : Kontrol Negatif secara topikal.yaitu tikus diberi paparan luka bakar derajat II dan pemberian base gel.
- b. K2 : Kelompok 1 yaitu tikus diberi pakan *standard* dan paparan luka bakar derajat II dan diberikan gel ekstrak daun sirih (*Piper betle*) 20% secara topikal.
- c. K3 : Kelompok 2 yaitu tikus diberi pakan *standard* dan paparan luka bakar derajat II dan diberikan gel ekstrak Aloe vera (*Aloe barbadensis*) 3% secara topikal.

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

4.2. Populasi dan Sampel

4.2.1. Populasi dan Sampel

Populasi penelitian menggunakan tikus jantan galur Wistar berusia 10–12 minggu dengan berat badan berkisar antara 150–200 gram. Hewan uji dipelihara menggunakan pakan pelet standar dan diberikan air minum berupa air putih pada suhu ruang. Kondisi pemeliharaan dijaga pada suhu 28°–32 °C dengan ventilasi serta pencahayaan yang memadai. Sebelum perlakuan, tikus terlebih dahulu menjalani masa adaptasi selama tujuh hari.

4.2.2. Besar Sampel

Validasi Rumus Federer (1991):

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

t : Jumlah kelompok

n : Jumlah sample tiap kelompok

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

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

$$n \geq 6$$

Berdasarkan rumus Federer, didapatkan minimal hewan untuk digunakan dalam percobaan untuk 4 kelompok pengujian adalah 6 ekor tikus.

4.2.3. Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan dengan metode *simple random sampling*. Sebanyak 24 ekor tikus jantan galur Wistar yang memenuhi kriteria inklusi dibagi secara acak ke dalam empat kelompok. Setiap kelompok terdiri atas enam ekor tikus, dengan pembagian satu kelompok sebagai kontrol dan tiga kelompok lainnya sebagai kelompok perlakuan.

4.2.4. Kriteria Inklusi

- a. Tikus Wistar jantan dengan berat badan 150-200 gram dengan umur 10-12 minggu.
- b. Tikus dalam kondisi sehat dan bebas dari penyakit.
- c. Secara makroskopis tikus tidak ada kelainan morfologi

4.2.5. Kriteria Eksklusi

- a. Tikus yang menunjukkan tanda-tanda penyakit selama masa adaptasi.
- b. Tikus yang menunjukkan gejala stress pada masa adaptasi di Laboratorium.
- c. Tikus dalam kondisi yang dapat memengaruhi hasil (misalnya sedang mengalami perubahan berat badan ekstrem, atau gangguan metabolik).
- d. Tidak memenuhi validasi luka bakar derajat II

4.2.6. Drop Out

- a. Tikus mati saat penelitian berlangsung

- b. Tikus menjadi sakit selama perlakuan

4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1. Variabel Bebas

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

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

Konsentrasi efektif terendah dimulai pada dosis 3% dengan signifikansi peningkatan kadar IL- β , peningkatan waktu penyembuhan luka dibandingkan dengan Vaseline dan Bioplasenton⁵, dan konsentrasi tertinggi efektif pada dosis 20% dalam pengujian efikasi penutupan luka sayatan pada tikus Wistar⁹. Dosis letal (LD50) pada ekstrak daun sirih lebih tinggi dari 5000 mg/Kg berat badan²¹. Uji toksisitas akut dan sub akut serta genotoksisitas sudah dilakukan menggunakan ekstrak alkohol daun sirih pada tikus dan model sel, dan tidak ditemukan efek negatif yang merugikan. Daun sirih dinyatakan aman berdasarkan parameter hematotoksisitas, hepatotoksisitas, genotoksisitas, berat organ, morfologi makroskopis, serta respons stres dan perilaku agresif pada tikus.

Studi lain juga mengonfirmasi bahwa ekstrak etanol daun sirih tidak menunjukkan efek toksik terhadap fibroblas dermal normal manusia²¹.

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

Konsentrasi merujuk pada penelitian dengan pengukuran ekspresi CD4 dan CD8⁺ Limfosit menggunakan cream Aloe vera 1% dan 2% pada tikus Sprague-Dawley dengan menggunakan Madecassol sebagai pembanding⁵². Pada fase proliferasi penyembuhan luka, limfosit CD4⁺ merangsang keratinosit untuk melepaskan interleukin-1 (IL-1), yang berperan dalam epitelisasi, proliferasi, dan maturasi epidermis. IL-1 kemudian menginduksi sel endotel untuk membentuk angiogenesis dan fibroblas dalam sintesis matriks ekstraseluler, yang mendukung regenerasi jaringan. Cream 1% dan 2% Aloe vera mengaktifkan fase proliferasi dan angiogenesis secara maksimal pada hari ke-5, yang mengindikasikan percepatan proses penyembuhan.

- i. K3 : gel ekstrak daun sirih (*Piper betle*) 20%
- ii. K4 : gel ekstrak Aloe vera (*Aloe barbadensis*) 3%
- iii. K5 : gel ekstrak daun sirih (*Piper betle*) 10% dan ekstrak Aloe vera (*Aloe barbadensis*) 1,5%

4.3.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan Angiopoietin-1.

4.3.3. Definisi Operasional

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

Sediaan topikal berupa gel kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) dibuat dari daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) yang dikeringkan, kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi hingga didapatkan ekstrak kental. Setelah disiapkan base gel, kombinasi ekstrak kedua tumbuhan tersebut dibuat dengan dosis ekstrak daun sirih dan ekstrak Aloe vera dengan tiga dosis berbeda (rendah, sedang, dan tinggi) dan kemudian dicampurkan dengan base gel.

Satuan : % konsentrasi ekstrak

Skala : Ordinal.

b. **Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)**

Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) adalah kadar protein VEGF yang terukur secara kuantitatif dalam serum darah tikus Wistar setelah diberi perlakuan gel ekstrak kombinasi daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera pada luka bakar derajat II.

Kadar VEGF ini diukur menggunakan metode ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) pada hari ke-15 pasca pemberian perlakuan. Nilai kadar VEGF digunakan sebagai indikator aktivitas angiogenesis dalam proses penyembuhan luka.

Satuan : pg/mg.

Skala : rasio.

c. Angiopoietin – 1

Angiopoietin-1 adalah kadar Ang-1 dalam serum darah tikus Wistar yang mengalami luka bakar derajat II dan diberi perlakuan gel ekstrak kombinasi daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera.

Pengukuran kadar Ang-1 dilakukan menggunakan metode ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) terhadap sampel darah yang diambil pada hari ke-15 pasca perlakuan

Kadar Ang-1 digunakan sebagai indikator aktivitas stabilisasi dan maturasi pembuluh darah dalam proses angiogenesis penyembuhan luka bakar.

Satuan : pg/mL.

Skala : rasio.

4.4. Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1. Alat

1. Kandang tikus dengan tempat pakan (ukuran: Panjang 40 cm, Lebar 30 cm, Tinggi 30 cm)
2. Timbangan tikus “Nigushi Scale”
3. Sarung tangan
4. Pipet tetes
5. Tabung endorf
6. Spektrofotometer
7. Mikropipet
8. ELISA reader

9. Alat pencukur
10. Pisau scalpel
11. Pinset
12. Sentrifuge
13. *Water bath*
14. Gelas kimia
15. Sduit dan needle
16. Plat lingkaran stainless steel (diameter 2 cm)
17. Labu erlenmeyer
18. Pemanas
19. Notch heater (COD Reactor HACH®)
20. Microplate (96-well plate)
21. Termometer

4.4.2. Bahan

1. Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*) yang diperoleh dari PT Phytochemindo Reksa
2. Ekstrak Aloe Vera (*Aloe barbadensis*) yang diperoleh dari PT Phytochemindo Reksa
3. Aquabides
4. ELISA analisis kit
5. Base Gel yang diperoleh dari PT Derma Elok Farma,
6. Standar *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan Angiopoietin – 1

7. Antibodi deteksi
8. Buffer pembilas

4.5. Prosedur Penelitian dan Alur Kerja

4.5.1. Perolehan Ethical Clearance

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

4.5.2. Cara Pembuatan Ekstrak Daun Sirih dan Aloe Vera

Daun sirih segar (*Piper betle*) dan daun Aloe vera (*Aloe barbadensis*) masing-masing sebanyak 500 g dibersihkan dan dikeringkan di oven pada suhu 40°C hingga kandungan airnya turun di bawah 10%. Simplisia kemudian disortir, dihancurkan menggunakan blender, dan disaring dengan ayakan 20 mesh.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Simplisia direndam dalam etanol selama 3 hari sambil diaduk tiga kali sehari. Setelah proses tersebut, rendaman disaring, dan ampasnya dimaserasi kembali selama 2 hari dengan 1500 ml etanol 96%. Maserasi kedua dilakukan dua kali untuk mendapatkan hasil yang optimal. Filtrat yang diperoleh kemudian dikentalkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C hingga menjadi ekstrak kental.

Untuk memastikan efektivitas, keamanan, kualitas, dan stabilitas bahan aktif, ekstrak Daun Sirih dan Aloe Vera yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari PT Phytochemindo Reksa, yang telah memiliki Sertifikat Analisis (COA) dan Lembar Data Keselamatan Bahan

(MSDS). Penggunaan ekstrak bersertifikat ini bertujuan untuk memastikan konsistensi kualitas bahan aktif dan meningkatkan validitas hasil penelitian.

4.5.3. Pembuatan Sediaan Gel Ekstrak Daun Sirih dan Aloe Vera

Pembuatan gel kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) dilakukan dengan menggunakan *base gel cream* dari PT Derma Elok Farma. Bahan dasar tersebut telah terverifikasi melalui *Certificate of Analysis* (COA) dan *Material Safety Data Sheet* (MSDS), sehingga kualitas, keamanan, efektivitas, serta stabilitas produk dapat terjamin.

Base gel cream ini memiliki sifat fisik berupa gel transparan hingga putih dengan pH antara 6,0–7,0, viskositas 33.000–43.000 cPs, dan densitas 0,95–1,01 g/ml, serta telah terdaftar di BPOM dengan nomor notifikasi NA18200106292.

Komposisi *base gel cream* terdiri dari Aqua, Glycerin, Polyacrylamide, Trilaureth-4 Phosphate, C13-14 Isoparaffin, Phenoxyethanol, Laureth-7, dan Ethylhexylglycerin. Produk ini dirancang untuk memberikan hidrasi ringan, cepat meresap, dan cocok untuk kulit berminyak hingga rentan jerawat.

Proses pembuatan gel dilakukan melalui langkah-langkah berikut:

1. Penyiapan *base gel cream*: *base gel cream* diaduk perlahan dengan spatula steril untuk memastikan tercampur secara merata.

2. Penambahan Ekstrak Aktif: Ekstrak Daun Sirih dan Aloe Vera yang diperoleh dari PT Phytochemindo Reksa ditimbang sesuai dengan dosis yang telah ditentukan, kemudian ditambahkan perlahan ke dalam *base gel cream* sambil terus diaduk hingga tercampur rata.
3. Pencampuran: Pencampuran dilakukan dengan teknik folding untuk mencegah terbentuknya gelembung udara yang berlebihan.
4. Penyesuaian pH dan Homogenisasi: pH formulasi diukur untuk memastikan pH berada dalam kisaran yang aman bagi kulit (5,5–6,5). Jika perlu, pH disesuaikan menggunakan larutan NaOH atau asam sitrat 10%.
5. Penyimpanan: Gel yang telah tercampur homogen dimasukkan ke dalam wadah tertutup rapat dan disimpan pada suhu ruang di tempat yang kering serta terlindung dari cahaya langsung.

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

4.5.4. Penetapan Dosis

Dosis ditentukan berdasarkan hasil ekstraksi. Tikus diberi gel sebanyak 0,5 g pada area luka bakar derajat II setiap hari selama 14 hari.

4.5.5. Cara Persiapan Sebelum Perlakuan

Hewan uji yang digunakan adalah tikus Wistar jantan berusia 2-3 bulan dengan berat 150-200 g. Tikus-tikus ini diadaptasi selama 7 hari

sebelum perlakuan, diberikan pakan standar, dan air minum ad libitum.

Ruang uji diatur dengan suhu antara 28-32°C dan pencahayaan alami.

- a. Sampel penelitian, yaitu hewan uji, dipilih berdasarkan kriteria inklusi, dengan pengambilan sampel secara acak sederhana sebanyak 24 ekor. Terdapat 4 kelompok yang masing-masing terdiri dari 6 ekor, yang mencakup dua kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan. Sebelum perlakuan, hewan-hewan tersebut diadaptasi selama 7 hari.
- b. Sebanyak 24 ekor tikus jantan galur Wistar diaklimatisasi terlebih dahulu di laboratorium.
- c. Hewan uji diberi pakan standar yang mengandung 20-25% protein, 45-55% pati, 10-12% lemak, dan 4% serat kasar, dengan jumlah pakan 15-20 gram per hari, serta air minum yang konsisten setiap hari..

4.5.6. Cara Pemberian Luka Bakar Derajat II

Sebelum membuat luka bakar derajat II pada sampel, pastikan tangan dan peralatan yang digunakan dalam kondisi steril. Cuci tangan secara menyeluruh, lalu kenakan sarung tangan. Tikus dibius menggunakan ketamin (60 mg/kgBB) dan xylazine (20 mg/kgBB). Luka bakar dibuat dengan menempelkan logam panas (70°C) pada bagian dorsal tikus selama 10 detik. Luka bakar yang dibuat memiliki diameter 5x5 cm pada area yang telah dicukur sebelumnya..

4.5.7. Pemberian Perlakuan Gel

Gel kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera dioleskan secara topikal pada area luka satu kali sehari selama 13 hari berturut-turut. Aplikasi gel dilakukan menggunakan spatula plastik steril dengan volume yang disesuaikan berdasarkan berat badan tikus dan luas luka sekitar $\pm 3,14 \text{ cm}^2$, untuk memastikan distribusi yang merata di seluruh permukaan luka.

Selama periode perlakuan, tikus diamati setiap hari untuk memantau proses penyembuhan luka, kondisi umum hewan, serta kemungkinan reaksi lokal seperti iritasi atau peradangan. Kebersihan kandang dijaga dengan baik dan suhu lingkungan dipertahankan pada kisaran normal untuk mendukung proses regenerasi jaringan.

Pada hari ke-14, semua tikus dianestesi dan dilakukan terminasi sesuai prosedur etik laboratorium hewan. Sampel darah diambil secara aseptik melalui pengambilan darah terminal dari vena kava/retroorbital. Sampel darah dimasukkan ke dalam tabung tanpa penambahan antikoagulan, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit untuk memperoleh serum. Serum yang dihasilkan selanjutnya dipindahkan ke dalam *cryotube* steril dan disimpan pada suhu -20°C hingga waktu analisis. Kadar VEGF dan Ang-1 dianalisis menggunakan metode ELISA berdasarkan protokol standar dari kit yang digunakan.

4.5.8. Prosedur Pengujian ELISA untuk Mengukur Kadar VEGF pada Jaringan Tikus

Setelah perlakuan selesai, jaringan kulit diambil, didinginkan di -20°C, dan dianalisis dengan metode ELISA untuk mengukur kadar VEGF.

Pengambilan jaringan dilakukan dengan memotong jaringan pada area luka bakar menggunakan gunting steril. Jaringan ditimbang sebanyak 1 g, dimasukkan ke dalam tabung berisi PBS (pH 7,4), dan disonifikasi selama 15 detik hingga jaringan hancur.

1. **Persiapan Alat dan Bahan:** Siapkan mikrotiter plate 96-well, antibodi capture dan deteksi spesifik VEGF, standar VEGF, substrat peroksidase (TMB), buffer pembilas, solusi penghenti, dan sampel jaringan tikus (supernatan homogenat).
2. **Persiapan Sampel:** Homogenkan jaringan tikus dan sentrifugasi untuk mengambil supernatan yang mengandung VEGF. Tentukan konsentrasi protein menggunakan metode Bradford atau BCA.
3. **Pemadatan Antibodi Capture:** Tambahkan antibodi capture ke dalam sumur plate dan inkubasi selama 1-2 jam pada suhu ruang atau semalam pada suhu 4°C.
4. **Pencucian Plate:** Cuci plate dengan buffer pembilas sebanyak 3-4 kali untuk menghilangkan antibodi yang tidak terikat.
5. **Penambahan Sampel dan Standar:** Tambahkan supernatan sampel dan standar VEGF ke dalam sumur plate, lalu inkubasi selama 1-2 jam.

6. **Penambahan Antibodi Deteksi:** Tambahkan antibodi deteksi terkonjugasi HRP ke dalam sumur plate dan inkubasi selama 1 jam.
7. **Pencucian Kembali:** Cuci plate untuk menghilangkan antibodi deteksi yang tidak terikat.
8. **Penambahan Substrat:** Tambahkan substrat peroksidase (TMB) dan inkubasi selama 15-30 menit hingga warna terbentuk.
9. **Penghentian Reaksi:** Tambahkan solusi penghenti (asam sulfat) untuk menghentikan reaksi enzimatik.
10. **Pembacaan Absorbansi:** Ukur absorbansi pada panjang gelombang 450 nm menggunakan mikroplat reader, dan hitung kadar VEGF berdasarkan kurva standar.

4.5.9. Prosedur Pengujian ELISA untuk Mengukur Kadar Angiopoietin-1 (Ang-1) pada Jaringan Tikus

Setelah perlakuan selesai, jaringan kulit diambil, didinginkan di -20°C , dan dianalisis dengan metode ELISA untuk mengukur kadar Angiopoietin-1.

Pengambilan jaringan dilakukan dengan memotong jaringan pada area luka bakar menggunakan gunting steril. Jaringan ditimbang sebanyak 1 g, dimasukkan ke dalam tabung berisi PBS (pH 7,4), dan disonifikasi selama 15 detik hingga jaringan hancur.

1. Siapkan mikroplate (96-well plate), antibodi capture (spesifik untuk Ang-1), antibodi deteksi terkonjugasi dengan enzim (misalnya, HRP),

standar Ang-1, substrat peroksidase (TMB), buffer pembilas, solusi penghenti, dan sampel jaringan tikus yang telah dihomogenkan.

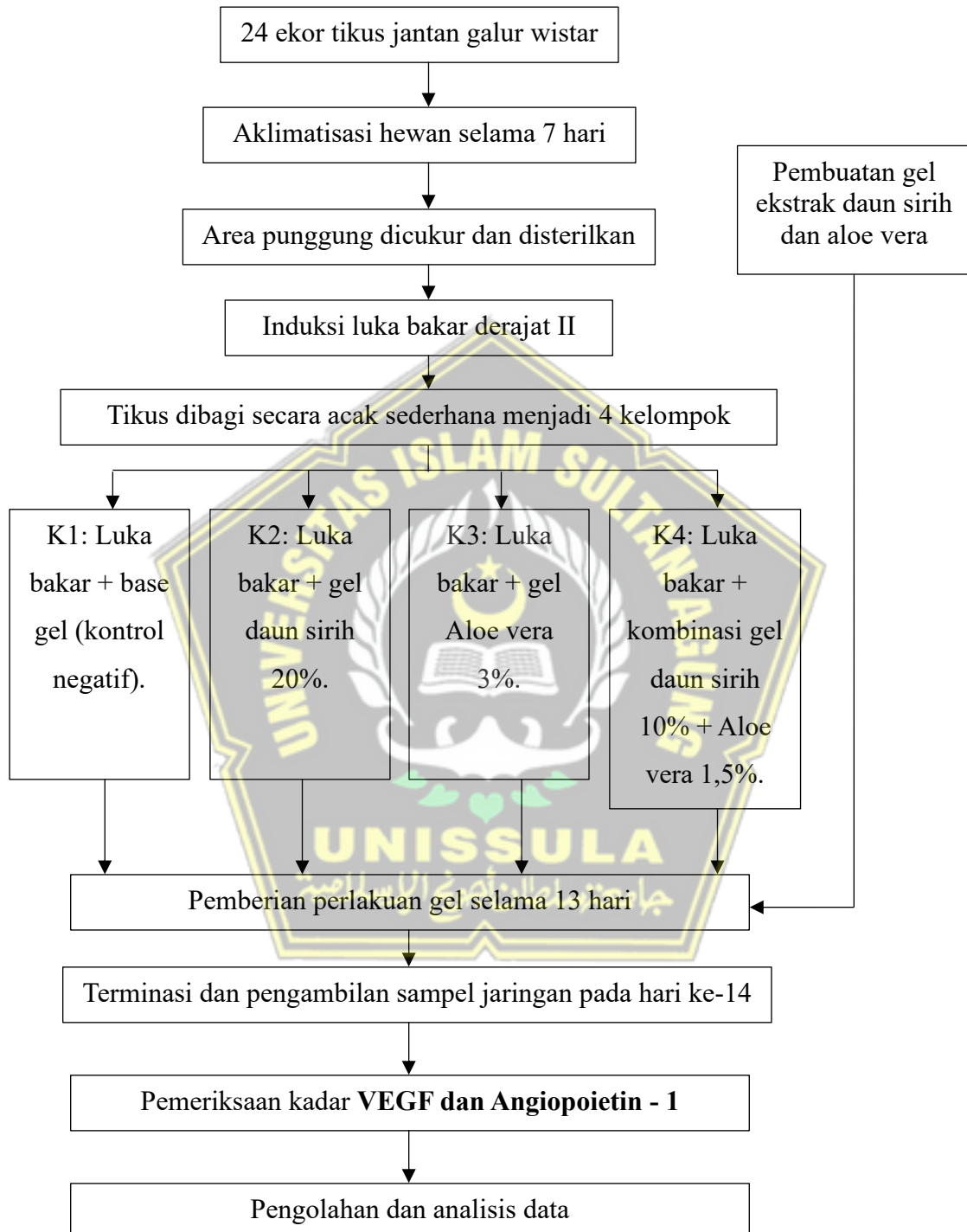
2. Homogenkan jaringan tikus yang telah diambil (misalnya jaringan luka bakar) dengan buffer penghomogenisasi untuk melarutkan Ang-1. Sentrifugasi dan ambil supernatan untuk digunakan sebagai sampel dalam uji ELISA.
3. Tambahkan antibodi capture spesifik Ang-1 ke dalam setiap sumur pada mikropate. Inkubasi plate selama 1-2 jam pada suhu ruang atau semalam di suhu 4°C agar antibodi melekat dengan kuat pada permukaan sumur.
4. Penambahan Sampel dan Standar, tambahkan sampel jaringan (supernatan) ke dalam sumur plate sesuai dengan jumlah yang ditentukan.
5. Tambahkan standar Ang-1 pada beberapa sumur untuk membangun kurva standar dengan konsentrasi yang diketahui. Inkubasi selama 1-2 jam pada suhu ruang.
6. Tambahkan antibodi deteksi yang terkonjugasi dengan enzim (HRP) untuk mengenali Ang-1. Inkubasi selama 1 jam pada suhu ruang.
7. Cuci plate dengan buffer pembilas sebanyak 3-4 kali untuk menghilangkan antibodi deteksi yang tidak terikat.
8. Penambahan Substrat, tambahkan substrat peroksidase (TMB) ke dalam setiap sumur. Enzim HRP yang terikat pada antibodi deteksi akan

mengubah substrat menjadi warna. Inkubasi selama 15-30 menit pada suhu ruang hingga terbentuk warna yang intens.

9. Penghentian Reaksi Tambahkan solusi penghenti (asam sulfat) untuk menghentikan reaksi enzimatik dan mengubah warna menjadi lebih stabil.
10. Pembacaan Absorbansi dan Analisis Data menggunakan mikropelat reader untuk mengukur absorbansi pada panjang gelombang 450 nm. Plot data standar untuk membuat kurva standar dan gunakan kurva ini untuk menghitung kadar Angiopoietin-1 dalam sampel jaringan berdasarkan absorbansi yang terukur.



4.5.10. Alur Penelitian



Gambar 4.2 Alur Penelitian

4.5.11. Tempat dan Waktu Penelitian

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

1. Proses ekstraksi daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) dilakukan di Laboratorium Produksi dan Riset Ekstrak PT Phytochemindo Reksa. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode terstandar sesuai prinsip *Good Laboratory Practice* (GLP). Seluruh bahan baku telah dilengkapi dengan dokumen COA dan MSDS, serta didukung oleh fasilitas dan peralatan ekstraksi yang memadai untuk menjamin kualitas hasil. Keberadaan sertifikasi ini memastikan bahwa ekstrak yang digunakan sebagai bahan aktif dalam sediaan gel memenuhi standar mutu, keamanan, dan kestabilan yang dibutuhkan untuk keperluan penelitian
2. Pembuatan sediaan gel dilakukan di Laboratorium Riset dan Pengembangan (R&D) PT Derma Elok Farma, Jakarta, dengan menggunakan basis gel siap pakai yang telah mengantongi izin edar dari BPOM. Seluruh bahan dasar disertai *Certificate of Analysis* (COA) dan *Material Safety Data Sheet* (MSDS). PT Derma Elok Farma merupakan industri kosmetik yang telah tersertifikasi Cara Pembuatan Kosmetik yang Baik (CPKB), sehingga menjamin kualitas, keamanan, serta stabilitas sediaan gel yang digunakan dalam penelitian ini.
3. Tahapan penelitian in vivo yang meliputi induksi luka bakar, pemberian perlakuan gel, pengambilan sampel, serta pengukuran biomarker VEGF

dan Angiopoietin-1, dilaksanakan di Integrated Biomedical Laboratory (IBL), Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang. Laboratorium ini telah memenuhi standar fasilitas untuk penelitian biomedis eksperimental dan molekuler.

4. Pengujian sampel dilakukan di Laboratorium CITO Semarang, dengan menggunakan metode ELISA untuk mengukur kadar VEGF dan Ang-1 pada sampel yang telah dikumpulkan.

4.5.12. Analisis Data

Data yang diperoleh diproses melalui tahapan penyuntingan, tabulasi, dan pembersihan, kemudian dianalisis secara deskriptif. Uji normalitas dilakukan menggunakan metode *Shapiro-Wilk*, sedangkan homogenitas varian diuji dengan *Levene*. Apabila distribusi data tidak normal, analisis dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis*, kemudian dilakukan uji *post hoc Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Seluruh proses analisis data dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *SPSS for Windows*.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

Studi ini merupakan eksperimen *in vivo* yang dilaksanakan di *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL), Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung, Semarang, pada periode Juli hingga Agustus 2025. Objek penelitian yang digunakan adalah tikus jantan galur Wistar dengan berat badan 150-200 gram dan berusia 10-12 minggu. Ekstrak Daun Sirih dan Aloe vera yang digunakan dalam eksperimen ini diperoleh dari PT Phytochemindo Reksa, sementara formulasi gel cream berasal dari PT Derma Elok Farma.

Tikus Wistar jantan yang memenuhi kriteria diberikan luka bakar derajat II dengan cara menempelkan logam panas pada bagian dorsal selama 10 detik. Sebanyak 24 ekor tikus digunakan dalam percobaan ini, namun hanya 20 ekor yang dianalisis menggunakan ELISA, karena sebagian tidak memenuhi kriteria akhir penelitian atau mengalami kematian dan penurunan kondisi. Penelitian ini terbagi menjadi 4 kelompok perlakuan, yaitu:

- Kelompok K1: Tikus yang diberi luka bakar dan dioleskan basis gel.
- Kelompok K2: Tikus yang diberi luka bakar dan dioleskan gel dengan kandungan ekstrak daun sirih 20%.
- Kelompok K3: Tikus yang diberi luka bakar dan dioleskan gel dengan kandungan ekstrak Aloe vera 3%.
- Kelompok K4: Tikus yang diberi luka bakar dan dioleskan gel dengan kombinasi ekstrak daun sirih 10% dan Aloe vera 1,5%.

Pada hari ketujuh setelah perlakuan, sampel darah akan diambil untuk mengukur kadar VEGF dan Ang-1 menggunakan teknik ELISA. Pengukuran ini bertujuan untuk menganalisis biomarker yang berhubungan dengan peradangan dan antioksidan, yang memungkinkan pemantauan respons tubuh terhadap luka bakar serta evaluasi efek terapi gel terhadap proses penyembuhan.

Prosedur ini dirancang untuk memastikan bahwa data yang diperoleh dapat mencerminkan perubahan yang terjadi selama proses pemulihan dan memberikan gambaran yang lebih jelas mengenai seberapa efektif terapi gel dengan kandungan ekstrak daun sirih dan Aloe vera dalam mempercepat penyembuhan luka bakar derajat II, sekaligus memodulasi respons inflamasi dan oksidatif tubuh.

Penelitian ini bertujuan untuk menilai pengaruh pemberian gel kombinasi ekstrak daun sirih (*Piper betle*) dan Aloe vera (*Aloe barbadensis*) terhadap kadar VEGF dan Ang-1 pada tikus Wistar dengan luka bakar derajat II. Penilaian dilakukan dengan mengukur perubahan kadar VEGF dan Ang-1 pada jaringan luka bakar setelah diberikan perlakuan gel topikal. Hasil dari analisis ini diharapkan dapat memberikan wawasan lebih dalam mengenai potensi kombinasi ekstrak herbal dalam mempercepat proses penyembuhan luka melalui pengaturan respons inflamasi dan pengurangan stres oksidatif.

5.1.1. Hasil Pemeriksaan Kadar VEGF pada Jaringan Kulit

Hasil analisis rerata kadar VEGF pada tiap kelompok hari ke-14 setelah perlakuan ditunjukkan pada tabel 5.1 sebagai berikut:

Tabel 5.1 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar VEGF dan Kruskal Wallis

Kelompok	Base Gel (K1)	Gel Daun Sirih 20% (K2)	Gel Aloe Vera 3% (K3)	Daun Sirih 10% + Aloe Vera 1,5% (K4)	<i>P</i> value
Kadar VEGF (ng/L)					
Mean	505,92	551,94	616,22	574,44	
SD	10,11	69,34	33,02	30,10	
<i>Shapiro-Wilk</i>	<0,001	0,988	0,325	0,420	
<i>Levene Test</i>					0,065
<i>Kruskal Wallis</i>					0,011

Keterangan:

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

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

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

Tabel 5.1 menunjukkan hasil pengukuran kadar VEGF pada berbagai kelompok percobaan yang diberikan perlakuan luka bakar derajat II dan terapi gel yang mengandung ekstrak daun sirih dan Aloe vera. Pada kelompok kontrol yang diberikan basis gel (K1), rata-rata kadar VEGF sebesar $505,92 \pm 10,11$ ng/L yang merupakan nilai terendah di antara kelompok lainnya. Kelompok eksperimen yang diberi gel dengan ekstrak daun sirih 20% (K2) menunjukkan kadar VEGF rata-rata sebesar $551,94 \pm 69,34$ ng/L. Pada kelompok yang diberi gel ekstrak Aloe vera 3% (K3), kadar VEGF tertinggi tercatat sebesar $616,22 \pm 33,02$ ng/L. Kelompok terakhir, yang diberi gel kombinasi ekstrak daun sirih 10% dan Aloe vera 1,5% (K4), menunjukkan kadar VEGF rata-rata $574,44 \pm 30,10$ ng/L.

Hasil pengujian statistik menunjukkan bahwa varians data seluruh kelompok homogen yang dibuktikan dengan hasil uji *Levene* yang menunjukkan *p-value* sebesar 0,065 ($p > 0,05$), yang berarti tidak ada perbedaan variansi yang signifikan di antara kelompok-kelompok

tersebut. Namun, hasil uji normalitas dengan menggunakan *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa terdapat kelompok yang memiliki distribusi data tidak normal, dengan nilai $p < 0,001$, yang menandakan data terdistribusi tidak normal.

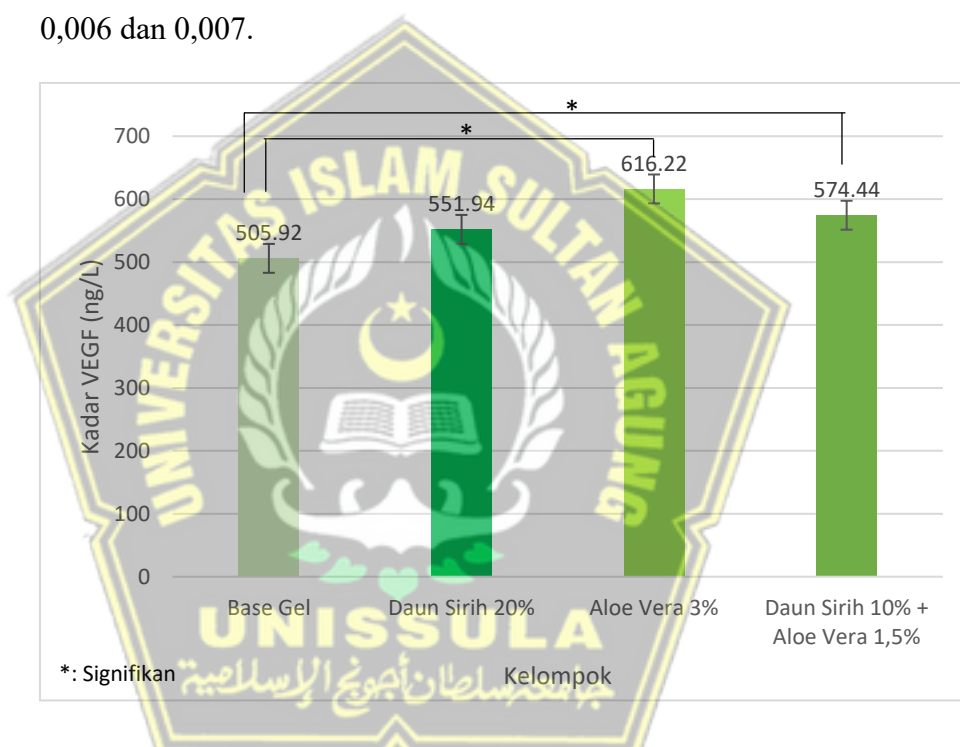
Distribusi yang tidak normal pada data mengharuskan penggunaan analisis non-parametrik. Analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai $p < 0,001$, yang mengindikasikan adanya perbedaan signifikan antara kelompok yang diuji. Untuk mengetahui perbedaan lebih lanjut antar kelompok, dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan uji *Mann-Whitney*. Uji ini bertujuan untuk mengidentifikasi kelompok mana yang menunjukkan perbedaan signifikan satu sama lain. Hasil ini mengindikasikan bahwa terapi gel yang mengandung ekstrak daun sirih dan Aloe vera berpengaruh terhadap kadar VEGF pada tikus dengan luka bakar derajat II, dengan perbedaan yang signifikan antara kelompok-kelompok perlakuan.

Tabel 5.2 Hasil Uji Post Hoc Mann Whitney setelah Perlakuan Hari ke-14 terhadap Rata-rata Kadar VEGF

Kelompok	K1	K2	K3	K4
K1	-	0,130	0,006*	0,007*
K2		-	0,113	0,525
K3			-	0,065
K4				-

Keterangan: *Bermakna $p < 0,05$

Tabel 5.2 menunjukkan hasil uji *post hoc* Mann-Whitney yang dilakukan setelah perlakuan pada hari ke-14 untuk menguji perbedaan rata-rata kadar VEGF antar kelompok percobaan. Berdasarkan hasil uji tersebut, kelompok K1 (base gel) menunjukkan perbedaan signifikan dengan kelompok aloe vera 3% (K3) dan kelompok gel kombinasi daun sirih 10% dan aloe vera 1,5% (K4) dengan nilai *p* berturut-turut adalah 0,006 dan 0,007.



Gambar 5.1 Diagram Batang Kadar VEGF setiap Kelompok

Hasil uji *post hoc* ini menunjukkan bahwa pemberian terapi gel dengan ekstrak aloe vera serta gel kombinasi daun sirih dan aloe vera dapat mempengaruhi kadar VEGF secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol.

5.1.2. Hasil Pemeriksaan Kadar Ang-1 pada Jaringan Kulit

Hasil analisis rerata kadar Ang-1 pada tiap kelompok hari ke-14 setelah perlakuan ditunjukkan pada tabel 5.3 sebagai berikut:

Tabel 5.3 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar Ang-1 dan Kruskal Wallis

Kelompok	Base Gel (K1)	Gel Daun Sirih 20% (K2)	Gel Aloe Vera 3% (K3)	Daun Sirih 10% + Aloe Vera 1,5% (K4)	<i>p value</i>
Kadar Ang-1 ng/mL					
Mean	170,38	247,08	210,96	257,56	
SD	27,74	7,78	19,46	7,83	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,052	0,046	0,330	0,046	
<i>Levene Test</i>					0,149
<i>Kruskal Wallis</i>					<0,001

Keterangan:

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

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

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

Tabel 5.3 menunjukkan kadar Ang-1 (ng/mL) pada lima kelompok yang mendapatkan perlakuan berbeda. Kelompok K1, yang hanya menggunakan base gel tanpa bahan aktif, mencatatkan kadar terendah, yaitu $170,38 \pm 27,74$ ng/mL. Kelompok K3, yang menggunakan gel Aloe vera 3%, menunjukkan kadar Ang-1 sebesar $210,96 \pm 19,45$ ng/mL, lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok K1. Kelompok K2, yang menggunakan gel daun sirih 20%, memiliki kadar Ang-1 sebesar $247,08 \pm 7,78$ ng/mL. Kelompok K5, yang menggunakan kombinasi daun sirih 10% dan Aloe vera 1,5%, mencatatkan kadar Ang-1 tertinggi, yaitu $257,56 \pm 7,83$ ng/mL. Efek sinergis antara kedua bahan aktif tersebut tampaknya memberikan dampak lebih besar dalam meningkatkan kadar Ang-1 dibandingkan penggunaan bahan aktif secara terpisah.

Berdasarkan hasil uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data tidak berdistribusi normal, ditunjukkan oleh nilai $p=0,046$ ($p<0,05$) pada kelompok K2 dan K4. Hasil penelitian menandakan bahwa asumsi normalitas tidak terpenuhi pada data yang diukur di setiap kelompok. Namun demikian, uji *Levene* memperlihatkan bahwa varians antar kelompok tidak berbeda secara signifikan dengan nilai $p=0,149$ ($p>0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa data memiliki varians yang homogen. Berdasarkan kondisi tersebut, pengujian perbedaan antar kelompok dilakukan menggunakan uji *Kruskal-Wallis*, yang lebih sesuai diterapkan pada data dengan distribusi tidak normal. Uji *Kruskal-Wallis* menghasilkan nilai $p<0,001$, yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar kelompok. Analisis lanjutan dilakukan dengan uji *Mann-Whitney* untuk menilai perbedaan antar kelompok secara lebih spesifik.

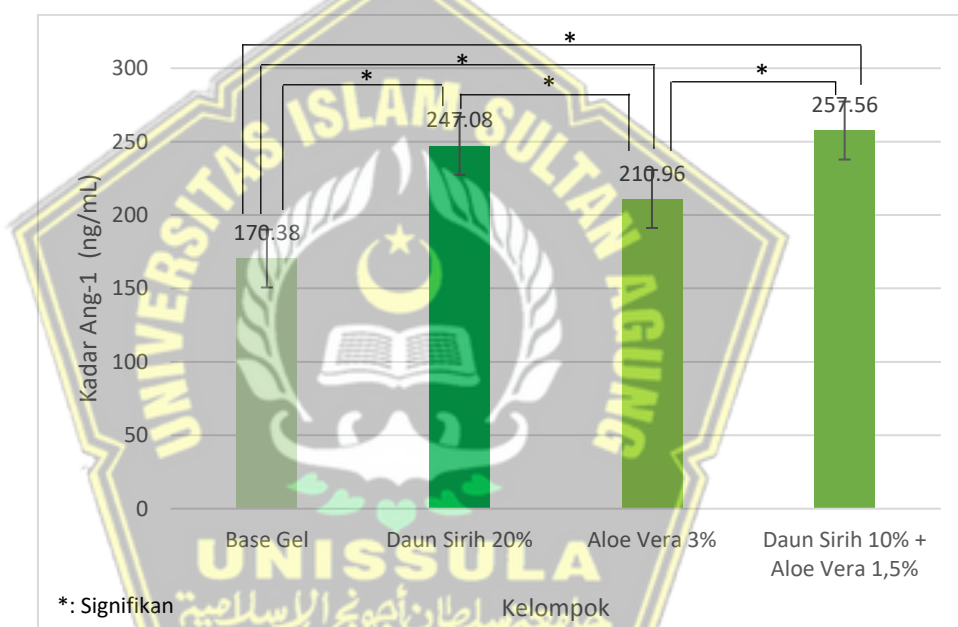
Tabel Error! Use the Home tab to apply 0 to the text that you want to appear here.4 Hasil Uji Post Hoc Mann Whitney setelah Perlakuan terhadap Rata-rata Kadar Ang-1

Kelompok	K1	K2	K3	K4
K1	-	0,008*	0,045*	0,008*
K2		-	0,011*	0,060
K3			-	0,008*
K4				-

Keterangan: *Bermakna $p<0,05$

Kelompok K1 menunjukkan perbedaan signifikan dengan kelompok K2 ($p=0,008$), K3 ($p=0,045$), dan K4 ($p=0,008$). Nilai $p<0,05$ pada uji ini menandakan bahwa terdapat pengaruh perlakuan yang signifikan terhadap kadar Ang-1 pada kelompok ini.

Kelompok K2 (Gel Daun Sirih 20%) menunjukkan perbedaan signifikan dengan kelompok K3 (Gel Aloe Vera 3%), dengan nilai $p = 0,011$. Selanjutnya, kelompok K3 (Gel Aloe Vera 3%) juga menunjukkan perbedaan signifikan dengan kelompok K4 (Daun Sirih 10% + Aloe Vera 1,5%) dengan nilai $p = 0,008$. Hasil uji *post hoc* ini menegaskan bahwa setiap perlakuan yang diterima kelompok-kelompok ini memengaruhi kadar Ang-1 secara signifikan,



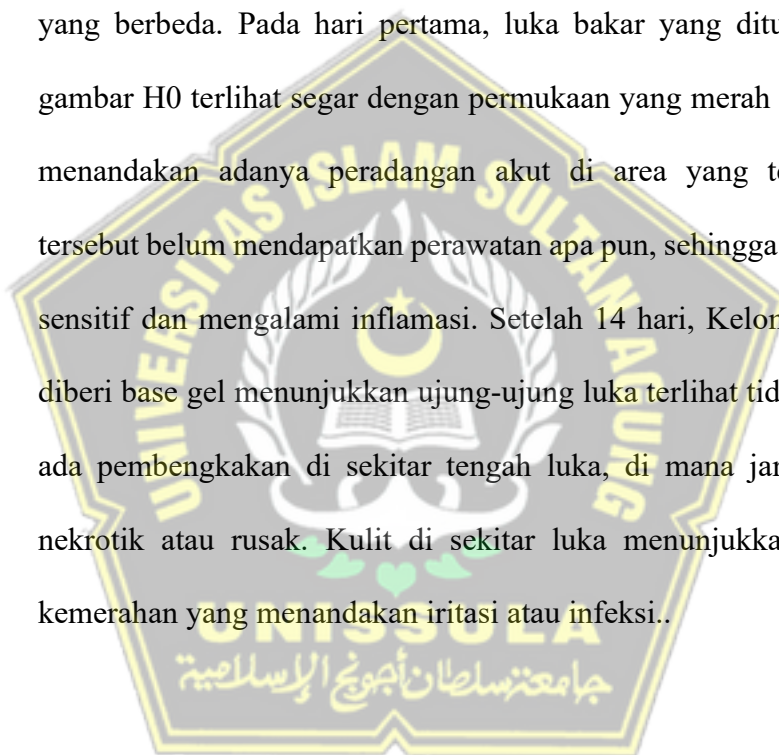
Gambar 5.2 Diagram Batang Kadar Ang-1 setiap Kelompok

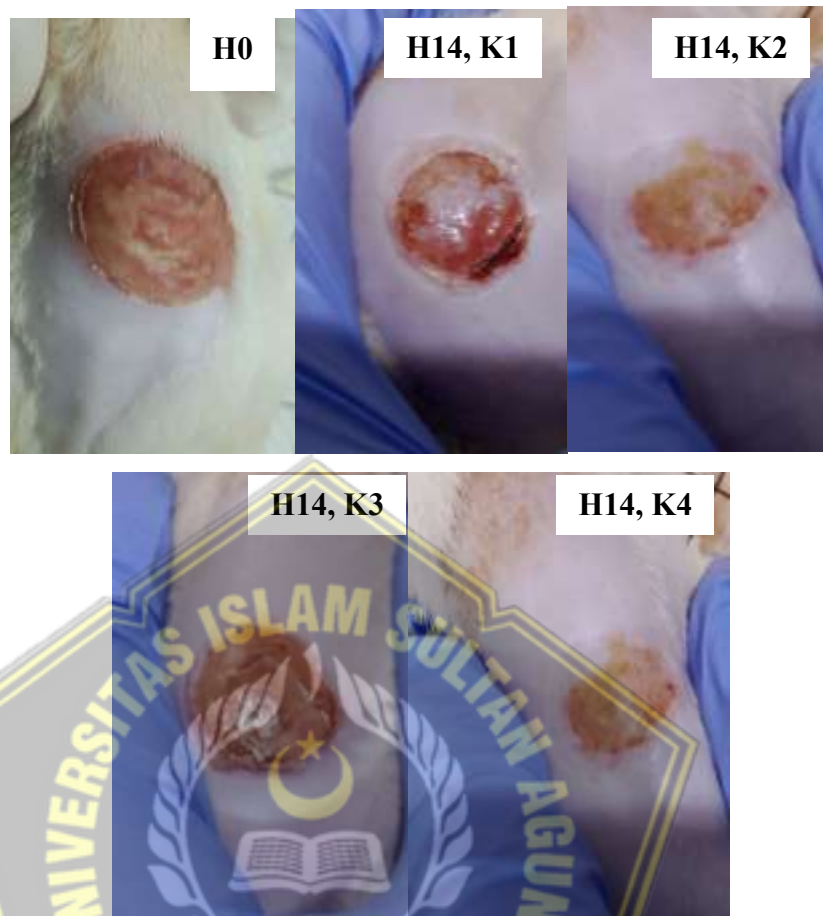
5.1.3. Gambaran Makroskopis pada Luka Eksisi Antar Kelompok

Pengamatan luka bakar secara makroskopis dilakukan untuk mengevaluasi kondisi luka pada setiap kelompok, baik sebelum maupun setelah perlakuan diterapkan. Tujuan dari pemeriksaan ini adalah untuk memastikan bahwa pembuatan luka bakar pada seluruh hewan percobaan dilakukan dengan konsisten, dengan memperhatikan keseragaman

ukuran, bentuk, dan lokasi luka. Evaluasi kondisi luka dilakukan setiap hari mulai dari hari ke-0 (H0), yang merupakan hari induksi luka bakar, hingga hari ke-14 (H14), untuk memantau perkembangan proses penyembuhan luka secara rinci.

Gambar 5.3 memperlihatkan perbandingan kondisi luka bakar pada hari ke-0 (H0) dan hari ke-14 (H14) pada empat kelompok perlakuan yang berbeda. Pada hari pertama, luka bakar yang ditunjukkan pada gambar H0 terlihat segar dengan permukaan yang merah dan terinfeksi, menandakan adanya peradangan akut di area yang terbakar. Luka tersebut belum mendapatkan perawatan apa pun, sehingga terlihat sangat sensitif dan mengalami inflamasi. Setelah 14 hari, Kelompok K1 yang diberi base gel menunjukkan ujung-ujung luka terlihat tidak teratur, dan ada pembengkakan di sekitar tengah luka, di mana jaringan tampak nekrotik atau rusak. Kulit di sekitar luka menunjukkan tanda-tanda kemerahan yang menandakan iritasi atau infeksi..





Gambar 5.3 Gambaran Makroskopis Hari ke-0 (H0) dan Gambaran Makroskopis Luka Bakar II pada Hari ke-14 (H14) Antar Kelompok Perlakuan (K1: Luka Bakar + Base Gel; K2: Luka Bakar + Gel Daun Sirih 20%; K3: Luka Bakar + Gel Aloe Vera 3%; K4: Luka Bakar + Gel Kombinasi Daun Sirih 10% + Aloe Vera 1,5%)

Pada kelompok K2, yang diberi perlakuan gel daun sirih 20%, penyembuhan luka tampak lebih baik. Luka terlihat lebih kering dan ada tanda-tanda pembentukan jaringan baru di area yang terbakar, menunjukkan efektivitas gel daun sirih dalam mempercepat proses penyembuhan. Kelompok K3, yang diberi gel aloe vera 3%, juga menunjukkan perbaikan yang signifikan. Luka tampak lebih bersih dan peradangan berkurang dengan jelas, yang memperlihatkan bahwa gel

aloe vera dapat mempercepat regenerasi jaringan kulit. Kelompok K4, yang menggunakan kombinasi gel daun sirih 10% dan aloe vera 1,5%, menunjukkan hasil terbaik. Luka pada kelompok ini hampir sembuh sepenuhnya, dengan sedikit tanda-tanda peradangan yang tersisa. Proses penyembuhan berjalan lebih cepat, dan jaringan baru tumbuh dengan baik, menunjukkan bahwa kombinasi gel daun sirih dan aloe vera memberikan hasil yang paling optimal dalam mempercepat penyembuhan luka bakar.

Secara keseluruhan, hasil yang diperoleh dari perlakuan-perlakuan tersebut menunjukkan bahwa gel daun sirih dan aloe vera sangat efektif dalam mempercepat penyembuhan luka bakar, terutama ketika keduanya digunakan dalam kombinasi.

5.2. Pembahasan Hasil Penelitian

Luka bakar merupakan cedera serius yang disebabkan oleh kontak kulit dengan sumber panas⁵³. Respon inflamasi akibat luka bakar dapat meluas ke seluruh tubuh, yang berpotensi menyebabkan kerusakan jaringan, kegagalan organ, atau bahkan komplikasi serius lainnya⁵⁴. Luka bakar dapat dibagi menjadi beberapa tingkatan berdasarkan kerusakannya, yaitu luka bakar derajat I, luka bakar derajat II, dan luka bakar derajat III sebagai tingkatan yang paling parah⁵⁵.

Pada luka bakar derajat II, umumnya terlihat lepuh di area luka bakar, yang menandakan adanya cairan yang terperangkap akibat kerusakan pembuluh darah kecil di dermis. Kulit yang terbakar tampak merah cerah dan basah karena sisa pembuluh darah di area tersebut masih utuh. Jenis luka bakar ini umumnya

memiliki prognosis yang baik jika ditangani dengan tepat, karena kemampuan regenerasi epidermis dari lapisan basal dermis masih cukup tinggi⁵⁵.

Proses penyembuhan luka bakar terdiri beberapa fase, seperti fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodelling. Pada fase proliferasi, tubuh mulai merangsang pembentukan jaringan dan pembuluh darah baru (angiogenesis) yang diregulasi oleh sitokin *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF)³⁹. VEGF akan dimediasi oleh interaksinya dengan tiga reseptor utama, yakni *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1* (VEGFR-1), VEGFR-2, dan VEGFR-3, serta dua ko-reseptor *neuropilin* (NRP1 dan NRP2) memiliki peran dalam pembentukan pembuluh darah selama perkembangan embrio, regenerasi jaringan dalam penyembuhan luka, serta adaptasi pembuluh darah terhadap kondisi hipoksia⁵⁶. Jalur VEGF/VEGFR ini menjadi salah satu target utama pengembangan terapi dalam mempercepat penyembuhan luka bakar serta mengatur angiogenesis yang efisien⁵⁷.

Selain VEGF, Angiopoetin juga merupakan keluarga protein penting yang mengatur pembentukan, stabilisasi, dan fungsi pembuluh darah melalui interaksinya dengan reseptor Tie2. Angiopoetin-1 (Ang-1) yang merupakan bagian dari keluarga Angiopoetin adalah ligan agonis utama untuk reseptor Tie2. Ikatan Ang-1 dengan Tie2 menginduksi fosforilasi tirosin pada reseptor tersebut, yang memicu aktivasi jalur sinyal intraseluler seperti jalur PI3K/Akt dan MAPK/ERK yang berperan dalam stabilisasi pembuluh darah. Ang-1 juga mendukung maturasi pembuluh darah, membantu pembentukan jaringan vaskular yang stabil dan fungsional selama perkembangan embrio dan regenerasi jaringan. Selain itu, Ang1

memiliki sifat antiinflamasi karena kemampuannya mengurangi ekspresi molekul adhesi seperti ICAM-1 dan VCAM-1, yang menghambat perlekatan leukosit ke dinding pembuluh darah. Ang-1 bekerja sinergis dengan VEGF untuk membentuk pembuluh darah baru yang stabil ⁵⁸.

Daun sirih dan Aloe vera merupakan tumbuhan yang telah banyak dimanfaatkan dalam mengatasi inflamasi. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa daun sirih dapat menurunkan kadar asam urat darah dan ekspresi ICAM-1 sehingga dapat berperan dalam proses angiogenesis⁵⁹. Sementara itu, Aloe vera memiliki senyawa bioaktif seperti aloe emodin, β -sitosterol, dan acemannan yang dapat merangsang produksi VEGF dan mempercepat penyembuhan luka⁶⁰. Penelitian ini ingin mengetahui pengaruh dari sediaan gel yang memiliki kandungan daun sirih, Aloe vera, serta kombinasi keduanya dalam penyembuhan luka bakar pada kulit tikus Wistar.

Pada penelitian ini, didapatkan hasil bahwa kadar VEGF tertinggi didapatkan pada kelompok K3, yaitu kelompok tikus yang diberikan olesan gel dengan kandungan ekstrak Aloe vera 3%. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang menyebutkan bahwa aplikasi topikal dan oral Aloe vera meningkatkan ekspresi VEGF, TGF- β 1, dan bFGF pada jaringan luka bakar tikus. Aplikasi topikal lebih efektif dalam mempercepat penyembuhan luka dibandingkan dengan pemberian oral⁶¹. Acemannan, komponen aktif dalam Aloe vera, dapat meningkatkan ekspresi VEGF pada fibroblast dan sel-sel kulit lainnya, yang berperan dalam pembentukan pembuluh darah baru dan mempercepat proses penyembuhan luka. VEGF yang dihasilkan akan merangsang angiogenesis, yang

mendukung regenerasi jaringan kulit dan penyembuhan luka bakar secara lebih efisien^{62,63}.

Kelompok K4, yaitu kelompok tikus yang diberi olesan gel kombinasi dengan kandungan ekstrak daun sirih 10% dan Aloe vera 1,5%, menunjukkan nilai VEGF tertinggi selanjutnya. Daun sirih memiliki potensi sebagai agen terapeutik dalam mempercepat penyembuhan luka bakar. Senyawa bioaktif dalam daun sirih, seperti hydroxychavicol, dapat meningkatkan produksi ROS mitokondria. Peningkatan ROS ini dapat mengaktifkan jalur sinyal seluler, termasuk jalur JNK dan eNOS. Aktivasi jalur ini berkontribusi pada peningkatan ekspresi VEGF melalui mekanisme transkripsi yang dimediasi oleh faktor transkripsi HIF-1 α . HIF-1 α berperan penting dalam respons sel terhadap kondisi hipoksia dan dapat menginduksi ekspresi gen-gen yang terlibat dalam angiogenesis, termasuk VEGF^{64,65}. Kemampuannya dalam merangsang produksi VEGF menunjukkan bahwa daun sirih dapat mendukung proses angiogenesis dan regenerasi jaringan, yang esensial dalam penyembuhan luka⁶⁶. Terdapat efek sinergis dari kombinasi ekstrak daun sirih dan Aloe vera, namun konsentrasi Aloe vera yang lebih tinggi dapat memberikan efek yang lebih kuat dalam merangsang produksi VEGF.

Kadar rata-rata VEGF pada kelompok eksperimen K2, yaitu kelompok tikus yang diberikan olesan gel dengan kandungan daun sirih 20%, menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok K1. Kelompok K3 dan K4 juga menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok K1 yang hanya menggunakan basis gel. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak daun sirih dan Aloe

vera dapat mempengaruhi proses angiogenesis dengan meningkatkan ekspresi VEGF, terutama pada gel yang mengandung ekstrak Aloe vera.

Pada pengujian kadar Ang-1, kelompok K4 yang diberi gel kombinasi daun sirih 10% dan Aloe vera 1,5% menunjukkan kadar Ang-1 tertinggi, diikuti oleh kelompok K2 yang diberi gel ekstrak daun sirih 20%. Analisis *Mann-Whitney* menunjukkan perbedaan signifikan antara kelompok kontrol (K1) dengan seluruh kelompok perlakuan (K2, K3, dan K4). Hal ini menunjukkan bahwa seluruh kelompok perlakuan meningkatkan kadar Ang-1 secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol yang hanya diberi base gel. Meskipun belum ada bukti langsung yang menghubungkan daun sirih dan aloe vera dengan peningkatan kadar Ang-1, beberapa penelitian menunjukkan bahwa aloe vera dapat mempengaruhi proses angiogenesis melalui peningkatan faktor-faktor terkait seperti VEGF dan NO⁶⁷. Hasil penelitian ini menunjukkan kombinasi ekstrak daun sirih dan Aloe vera mempengaruhi proses penyembuhan luka yang ditandai dengan meningkatnya kadar Ang-1.

Berdasarkan penelitian ini, dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak Aloe vera 3% memberikan nilai kadar VEGF tertinggi dan kombinasi ekstrak daun sirih 10% dan Aloe vera 1,5% memberikan nilai rerata kadar Ang-1 yang tertinggi. Penemuan ini sesuai dengan hasil penelitian terdahulu, dimana pengujian formasi gel dengan kandungan daun sirih 3%, Aloe vera 2%, dan tambahan CMC yang dapat mempercepat penyembuhan luka bakar, mendukung proses regenerasi kulit dan mempercepat perbaikan jaringan di area luka bakar⁶⁸. Dengan formulasi yang tepat,

gel dengan kombinasi kandungan ekstrak daun sirih dan Aloe vera ini memiliki potensi sebagai terapi penyembuhan luka bakar derajat ringan-sedang yang efektif.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan. Pengamatan kadar VEGF dan Ang-1 hanya dilakukan pada hari ke-14, tanpa adanya variasi titik waktu pengamatan, sehingga informasi mengenai kapan ekstrak bekerja secara optimal belum dapat diketahui secara pasti. Penelitian ini juga tidak melakukan pemeriksaan histopatologi pada jaringan tikus yang mengalami luka dan telah diberikan perlakuan, sehingga aspek struktural dan perubahan jaringan tidak terungkap.

Penelitian selanjutnya sebaiknya melakukan pengamatan pada beberapa titik waktu yang berbeda agar dapat mengetahui kapan ekstrak bekerja secara optimal dalam meningkatkan kadar VEGF dan Ang-1. Penambahan pemeriksaan histopatologi pada jaringan luka tikus juga akan memberikan gambaran lebih jelas mengenai perubahan struktural dan proses penyembuhan yang terjadi. Selain itu, penelitian perlu memperluas parameter yang diukur, misalnya dengan menambahkan faktor-faktor angiogenesis lain atau indikator inflamasi, sehingga hasil yang diperoleh dapat lebih komprehensif dan memberikan pemahaman yang lebih mendalam mengenai mekanisme kerja ekstrak daun sirih dan aloe vera dalam proses penyembuhan luka.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. Gel kombinasi ekstrak daun sirih dan Aloe vera terbukti memberikan pengaruh signifikan terhadap kadar VEGF dan Ang-1 pada tikus model luka bakar derajat II.
2. Gel kombinasi ekstrak daun sirih dan aloe vera terbukti meningkatkan kadar VEGF secara signifikan pada tikus model luka bakar derajat II.
3. Gel kombinasi ekstrak daun sirih dan aloe vera terbukti meningkatkan kadar Angiopoietin-1 secara signifikan pada tikus model luka bakar derajat II.

6.2. Saran

1. Melakukan pengamatan pada beberapa titik waktu yang berbeda untuk mengetahui kapan ekstrak bekerja secara optimal dalam meningkatkan kadar VEGF dan Ang-1.
2. Menambahkan pemeriksaan histopatologi pada jaringan luka tikus untuk memberikan gambaran yang lebih jelas mengenai perubahan struktural dan proses penyembuhan yang terjadi.
3. Memperluas parameter yang diukur, misalnya dengan menambahkan faktor-faktor angiogenesis lain atau indikator inflamasi, agar hasil penelitian lebih komprehensif.

DAFTAR PUSTAKA

1. Karar J, Maity A. PI3K/AKT/mTOR Pathway in Angiogenesis. *Front Mol Neurosci*. 2011;4(December):1–8.
2. Sánchez M, González-Burgos E, Iglesias I, Gómez-Serranillos MP. Pharmacological update properties of aloe vera and its major active constituents. *Molecules*. 2020;25(6):1–37.
3. Iosageanu A, Mihai E, Seciu-Grama AM, Utoiu E, Gaspar-Pintiliescu A, Gatea F, et al. In Vitro Wound-Healing Potential of Phenolic and Polysaccharide Extracts of Aloe vera Gel. *J Funct Biomater*. 2024 Sep 1;15(9).
4. Xian M, Cai J, Zheng K, Liu Q, Liu Y, Lin H, et al. Aloe-emodin prevents nerve injury and neuroinflammation caused by ischemic stroke: Via the PI3K/AKT/mTOR and NF- κ B pathway. *Food Funct*. 2021 Sep 7;12(17):8056–67.
5. Darmawan A, Yusuf S, Tahir T, Syahriyani S. STRADA Jurnal Ilmiah Kesehatan Betel Leaf Extract Efficacy on Wound Healing: A Systematic review STRADA Jurnal Ilmiah Kesehatan. *STRADA Jurnal Ilmiah Kesehatan*. 2021;10(1):526–36.
6. Firdaus I, Arfian N, Wahyuningsih MSH, Agustningsih D. Aloe vera stimulate cell proliferation, cell migration, expression of vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A), and c-Jun N-terminal kinase-1 (JNK-1) on fibroblast of diabetic rat models. 2019;51Journal(2):114–27.
7. Budiman A, Khoerunnisa R, Alfauziah T. Wound-healing test of piper betle leaf extract and aloe vera in gel preparation. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 2018 May 1;10:86–91.
8. Subiantoro A, Utariani A, Susilo I. Expression of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and New Blood Vessels Formation on Wound Incision Post Ropivacaine Administration in Animal Model. Vol. 5, *International Journal of Innovative Science and Research Technology*. 2020. p. 829–36.
9. Suharto IPS, Ramayanti ED, Yunalia EM, Ulfa N. Betel Leaf Extract's Effect (Piper Batle Linn) on The Healing Process of Incision Wounds in Rats (*Rattus Norvegicus*). *Jurnal Pendidikan Keperawatan Indonesia*. 2021;7(2):123–8.
10. Erna R, Wulan K, Saleh MgsI. The Effect of Aloe Vera Topical Gel Extraction on Tgf-B1 Expression in Thermal Burn Eyelid Grade II Rats Model. *Sriwijaya Journal of Medicine*. 2022;5(3):130–6.
11. Saleh DO, Baraka SM, Jaleel GAA, Hassan A, Ahmed-Farid OA. Eugenol alleviates acrylamide-induced rat testicular toxicity by modulating AMPK/p-AKT/mTOR signaling pathway and blood–testis barrier remodeling. *Sci Rep*. 2024;14(1).
12. Xian M, Cai J, Zheng K, Liu Q, Liu Y, Lin H, et al. Aloe-emodin prevents nerve injury and neuroinflammation caused by ischemic stroke via the

- PI3K/AKT/mTOR and NF- κ B pathway. *Food Funct.* 2021 Sep;12(17):8056–67.
13. Florek K, Mendyka D, Gomulka K. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Role in the Cardiovascular System. *Biomedicines.* 2024;12(5):1–15.
 14. Braile M, Marcella S, Cristinziano L, Galdiero MR, Modestino L, Ferrara AL, et al. VEGF-A in cardiomyocytes and heart diseases. *Int J Mol Sci.* 2020;21(15):1–18.
 15. Broussy S. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and VEGF Receptor Inhibitors in Health and Disease. *Pharmaceutics.* 2024;17(7):13–5.
 16. Leong A, Kim M. The angiopoietin-2 and tie pathway as a therapeutic target for enhancing antiangiogenic therapy and immunotherapy in patients with advanced cancer. *Int J Mol Sci.* 2020;21(22):1–20.
 17. David S, Kumpers P, van Slyke P, Parikh SM. Mending Leaky Blood Vessels: The Angiopoietin-Tie2 Pathway in Sepsis. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 2013 Apr 1;345(1):2 LP – 6.
 18. Widowati L, Handayani L, Mujahid R. The use of betel (Piper betle) leaves for maintaining the health of women and children at various ethnic groups in Indonesia. *Nusantara Bioscience.* 2020;12(2):120–6.
 19. Saini S, Dhiman A, Nanda S. Pharmacognostical and phytochemical studies of Piper betle linn leaf. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2016;8(5):222–6.
 20. Kumar S, Juyal A, Bisht S, Jaiswal V. Betel leaf (Piper betle): Ethnomedicine to emerging therapeutic frontiers. *J Pharmacogn Phytochem.* 2024;13(2):249–58.
 21. Nayaka NMDMW, Sasadara MMV, Sanjaya DA, Yuda PESK, Dewi NLKAA, Cahyaningsih E, et al. Piper betle (L): Recent review of antibacterial and antifungal properties, safety profiles, and commercial applications. *Molecules.* 2021;26(8):1–21.
 22. Sumarya M, Adiputra N, Manuaba P, Sukrama D. Betel Leaf Extracts (Piper Betle L.) Prevent Endothelial Dysfunction By Reducing the Levels of Uric Acid and Icam-1 Expression of the Hyperuricemia Wistar Rats (Rattus Norvegicus) Aortic Endothelial. *Indonesia Journal of Biomedical Science.* 2016;10(1):1–5.
 23. Laneri S, Di Lorenzo RM, Bernardi A, Sacchi A, Dini I. Aloe barbadensis: A Plant of Nutricosmetic Interest. *Nat Prod Commun.* 2020 Jul 1;15(7):1934578X20932744.
 24. Kar SK, Bera TK. PHYTOCHEMICAL CONSTITUENTS OF ALOE VERA AND THEIR MULTIFUNCTIONAL PROPERTIES: A COMPREHENSIVE REVIEW Sanjit Kumar Kar and Tushar Kanti Bera * Department of Physiology, Universal College of Medical Sciences, Bhairahawa, Lumbini Zone, Nepal. *Int J Pharm Sci Res.* 2018;9(4):1416–23.
 25. Sargowo D, Handaya AY, Widodo MA, Lyrawati D, Tjokroprawiro A. Aloe Gel Enhances Angiogenesis in Healing of Diabetic Wound. *The Indonesian Biomedical Journal.* 2011;3(3):204.

26. Kaewsrisung S, Sukpat S, Issarasena N, Patumraj S, Somboonwong J. The effects of oral Aloe vera on the efficacy of transplanted human endothelial cells and the expression of matrix metalloproteinases in diabetic wound healing. *Heliyon*. 2021;7(12):e08533.
27. Khavkin J, Ellis DAF. Aging skin: histology, physiology, and pathology. *Facial Plast Surg Clin North Am*. 2011;19 2:229–34.
28. Żwieręło W, Piorun K, Skórka-Majewicz M, Maruszewska A, Antoniewski J, Gutowska I. Burns: Classification, Pathophysiology, and Treatment: A Review. *Int J Mol Sci*. 2023;24(4).
29. Ricci V, Ricci C, Cocco G, Donati D, Farì G, Mezzan K, et al. From histology to sonography in skin and superficial tissue disorders: EURO-MUSCULUS/USPRM* approach. *Pathol Res Pract*. 2022;237:154003.
30. Lotfollahi Z. The anatomy, physiology and function of all skin layers and the impact of ageing on the skin. *Wound Practice and Research*. 2024;32(1):6–10.
31. Jeschke MG, van Baar ME, Choudhry MA, Chung KK, Gibran NS, Logsetty S. Burn injury. *Nat Rev Dis Primers*. 2020;6(1).
32. Yakupu A, Zhang J, Dong W, Song F, Dong J, Lu S. The epidemiological characteristic and trends of burns globally. *BMC Public Health*. 2022;22(1):1–16.
33. Bai Q, Zheng C, Chen W, Sun N, Gao Q, Liu J, et al. Current challenges and future applications of antibacterial nanomaterials and chitosan hydrogel in burn wound healing. *Mater Adv*. 2022 Jul 27;3.
34. Volety R, J B J. Classification of Burn Images into 1st, 2nd, and 3rd Degree Using State-of-the-Art Deep Learning Techniques. *ECS Trans*. 2022;107(1):18323.
35. Landén NX, Li D, Ståhle M. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2016;73(20):3861–85.
36. Lestari T, Syukur S, Revilla G, Sukma Rita R, Rustini R. The Burn Wound Healing Process : A Review. *International Journal of Progressive Sciences and Technologies*. 2023;40(1):77.
37. Korkmaz HI, Flokstra G, Waasdorp M, Pijpe A, Papendorp SG, de Jong E, et al. The Complexity of the Post-Burn Immune Response: An Overview of the Associated Local and Systemic Complications. *Cells*. 2023;12(3):1–21.
38. Korkmaz HI, Flokstra G, Waasdorp M, Pijpe A, Papendorp SG, de Jong E, et al. The Complexity of the Post-Burn Immune Response: An Overview of the Associated Local and Systemic Complications. Vol. 12, *Cells*. MDPI; 2023.
39. Landén NX, Li D, Ståhle M. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. Vol. 73, *Cellular and Molecular Life Sciences*. Birkhauser Verlag AG; 2016. p. 3861–85.
40. Dudley AC, Griffioen AW. Pathological angiogenesis: mechanisms and therapeutic strategies. Vol. 26, *Angiogenesis*. Springer Netherlands; 2023. 313–347 p.

41. Karar J, Maity A. PI3K/AKT/mTOR Pathway in Angiogenesis. *Front Mol Neurosci.* 2011;4.
42. Nitzsche B, Rong WW, Goede A, Hoffmann B, Scarpa F, Kuebler WM, et al. Coalescent angiogenesis—evidence for a novel concept of vascular network maturation. *Angiogenesis.* 2022;25(1):35–45.
43. Dudley AC, Griffioen AW. The modes of angiogenesis: an updated perspective. Vol. 26, *Angiogenesis.* Germany; 2023. p. 477–80.
44. Rathod H, Mehta D, Author C, Rathod HJ, Mehta DP. A Review on Pharmaceutical Gel [Internet]. Vol. 1, Article in *International Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2015. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/286451492>
45. Safira AG. PENGEMBANGAN FORMULA GEL UNTUK LUKA. 2023.
46. Huynh PD. Hydrogel dressings: Revolutionizing burn care with innovative wound healing technology. Vol. 12, *Biomedical Research and Therapy*. BiomedPress; 2025. p. 7207–23.
47. Wati H, Fery Yuniar P, Nur Agustina V, No S, Kediri K, Timur J. FORMULASI DAN UJI MUTU FISIK SEDIAAN GEL ANTISEPTIK (HAND SANITIZER) KOMBINASI EKTRAK LIDAH BUAYA (Aloe vera) DAN DAUN SIRIH (Piper betle linn).
48. Sylvia Br Ginting O, Rahmah P. Evaluation of Anti-acne Gel Preparations Combination of Aloe Vera Leaf Extract (Aloe vera (L) Brum F.) And Betel Leaf Extract (Piper betle L.) Evaluasi Sediaan Gel Antijerawat Kombinasi Ekstrak Daun Lidah Buaya (Aloe vera (L) Brum F.) Dan Ekstrak Daun Sirih (Piper betle L.). *Journal of Pharmaceutical and Sciences.*
49. Burgess M, Valdera F, Varon D, Kankuri E, Nuutila K. The Immune and Regenerative Response to Burn Injury. *Cells.* 2022;11(19).
50. Tsuji-Tamura K, Sato M, Fujita M, Tamura M. The role of PI3K/Akt/mTOR signaling in dose-dependent biphasic effects of glycine on vascular development. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020;529(3):596–602.
51. Lien LT, Tho NT, Ha DM, Hang PL, Nghia PT, Thang ND. Influence of phytochemicals in piper betle linn leaf extract on wound healing. *Burns Trauma.* 2015 Dec 1;3(1).
52. Prakoso YA, Kurniasih. The effects of aloe vera cream on the expression of CD4+ and CD8+ lymphocytes in skin wound healing. *J Trop Med.* 2018;2018.
53. Żwierello W, Piorun K, Skórka-Majewicz M, Maruszczyńska A, Antoniewski J, Gutowska I. Burns: Classification, Pathophysiology, and Treatment: A Review. Vol. 24, *International Journal of Molecular Sciences.* MDPI; 2023.
54. Yakupu A, Zhang J, Dong W, Song F, Dong J, Lu S. The epidemiological characteristic and trends of burns globally. *BMC Public Health.* 2022 Dec 1;22(1).
55. Bai Q, Zheng C, Chen W, Sun N, Gao Q, Liu J, et al. Current challenges and future applications of antibacterial nanomaterials and chitosan hydrogel in burn wound healing. Vol. 3, *Materials Advances.* Royal Society of Chemistry; 2022. p. 6707–27.

56. Florek K, Mendyka D, Gomułka K. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Role in the Cardiovascular System. Vol. 12, Biomedicines. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024.
57. Broussy S. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and VEGF Receptor Inhibitors in Health and Disease. Vol. 17, Pharmaceuticals. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024.
58. Leong A, Kim M. The angiopoietin-2 and tie pathway as a therapeutic target for enhancing antiangiogenic therapy and immunotherapy in patients with advanced cancer. Vol. 21, International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2020. p. 1–20.
59. Sumarya IM, Adiputra N, Putra-Manuaba, Sukrama IDM. BETEL LEAF EXTRACTS (PIPER BETLE L.) PREVENT ENDOTHELIAL DYSFUNCTION BY REDUCING THE LEVELS OF URIC ACID AND ICAM-1 EXPRESSION OF THE HYPERURICEMIA WISTAR RATS (RATTUS NORVEGICUS) AORTIC ENDOTHELIAL. Indonesia Journal of Biomedical Science [Internet]. 10:1–5. Available from: <http://ijbs-udayana.org/andwww.ojs.unud.ac.id>
60. Firdaus I, Arfian N, Wahyuningsih MSH, Agustiningsih D. Aloe vera stimulate cell proliferation, cell migration, expression of vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A), and c-Jun N-terminal kinase-1 (JNK-1) on fibroblast of diabetic rat models. Journal of the Medical Sciences (Berkala Ilmu Kedokteran). 2019;
61. Atiba A, Abdo W, Ali E, Abd-Elsalam M, Amer M, Abdel Monsef A, et al. Topical and oral applications of Aloe vera improve healing of deep second-degree burns in rats via modulation of growth factors. Biomarkers. 2022 Aug 18;27(6):608–17.
62. Ali F, Wajid N, Sarwar MG, Qazi AM. Oral Administration of Aloe vera Ameliorates Wound Healing through Improved Angiogenesis and chemotaxis in Sprague Dawley Rats. Curr Pharm Biotechnol. 2021 Jul;22(8):1122–8.
63. Lee ZM, Goh BH, Khaw KY. Aloe vera and the Proliferative Phase of Cutaneous Wound Healing: Status Quo Report on Active Principles, Mechanisms, and Applications. Planta Med. 2025 Jan 20;91(01/02):4–18.
64. Chen C, Li L, Zhou H, Min W. The Role of NOX4 and TRX2 in Angiogenesis and Their Potential Cross-Talk. Antioxidants. 2017 Jun 8;6(2):42.
65. Gundala SR, Aneja R. Piper Betel Leaf: A Reservoir of Potential Xenohormetic Nutraceuticals with Cancer-Fighting Properties. Cancer Prevention Research. 2014 May 1;7(5):477–86.
66. Rahmawati E, Fawzy A. The Potential Effect of Daun Sirih (Piperaceae Leaf) on the Burn Wound Healing: A Literature Review. International Journal of Medical Science and Clinical Research Studies. 2024 Nov 30;04(11).
67. Kaewsrising S, Sukpat S, Issarasena N, Patumraj S, Somboonwong J. The effects of oral Aloe vera on the efficacy of transplanted human endothelial

- cells and the expression of matrix metalloproteinases in diabetic wound healing. *Heliyon*. 2021 Dec;7(12):e08533.
68. Budiman A, Khoerunnisa R, A. TQ. WOUND-HEALING TEST OF PIPER BETLE LEAF EXTRACT AND ALOE VERA IN GEL PREPARATION. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 2018 Aug 5;10(3):86–91.

