

**PENGARUH KOMBINASI GEL *CENTELLA ASIATICA*
DAN KAPSUL *CHANNA STRIATA* TERHADAP TNF- α
DAN IL6**

**(Studi Eksperimental pada Tikus Galur Wistar Model Diabetes
yang Diinduksi Streptozotocin dan Nicotinamide dan Dilukai
Insisi)**

TESIS

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Magister Ilmu Biomedik



Magister Ilmu Biomedik

Dimas Irfan Nabih

MBK2424010504

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

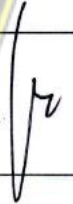
2026

LEMBAR PENGESAHAN DEWAN PENGUJI

Laporan Tesis Dengan Judul "PENGARUH KOMBINASI GEL *CENTELLA ASIATICA* DAN KAPSUL *CHANNA STRIATA* TERHADAP TNF- α DAN IL6 (Studi Eksperimental pada Tikus Galur Wistar Model Diabetes yang Diinduksi Streptozotocin dan Nicotinamide dan Dilukai Insisi)" ini telah dipertahankan di depan Penguji Sidang Akhir pada :

Hari : Kamis

Tanggal : 5 Februari 2026

NO	NAMA	JABATAN	TANDA TANGAN
1.	Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF	Penguji I	
2.	Dr. dr. Chodidjah, M.Kes	Penguji II	
3.	Dr. Suparmi, S.Si, M.Si	Penguji III	
4.	Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS	Pembimbing I	
5.	Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes	Pembimbing II	

**PENGARUH KOMBINASI GEL *CENTELLA ASIATICA*
DAN KAPSUL *CHANNA STRIATA* TERHADAP TNF- α
DAN IL6**

**(Studi Eksperimental pada Luka Insisi Tikus Galur Wistar Model
Diabetes yang Diinduksi Streptozotocin dan Nicotinamide)**

Disusun oleh :

Dimas Irfan Nabih

MBK2424010504

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji

Pada Tanggal 5 Februari 2026

Dan Telah memenuhi syarat untuk diterima

Pembimbing I



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

Pembimbing II



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

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedis
Fakultas Kedokteran Unissula



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

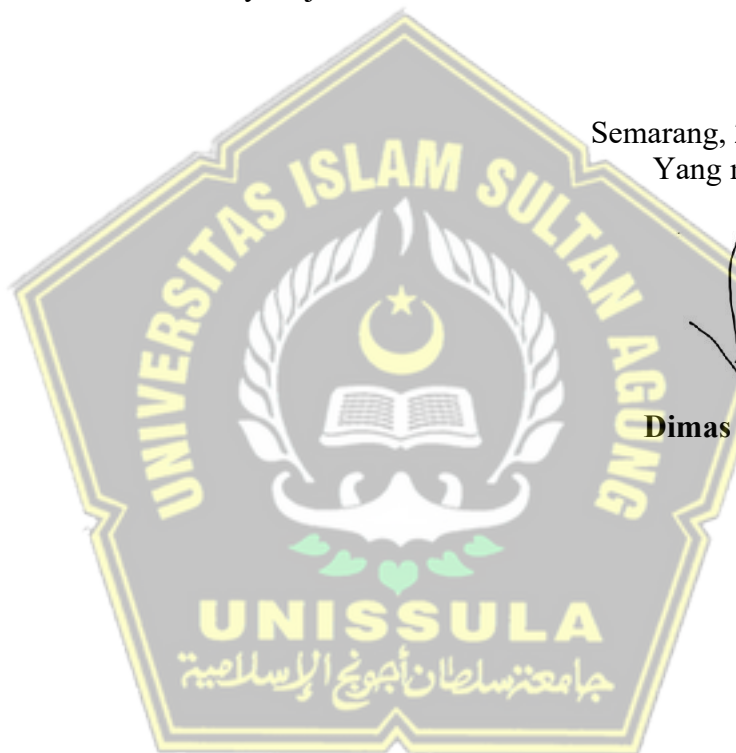
PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan 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, 20 Februari 2026
Yang menyatakan,



Dimas Irfan Nabih



RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Dimas Irfan Nabih
Tempat, tanggal lahir : Kudus, 7 Juli 1999
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Laki-laki

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN : SDIT Al Islam Kudus Lulus Tahun 2011
2. SMPN : SMPN 1 Kudus Lulus Tahun 2014
3. SMA : SMA N 1 Kudus Lulus Tahun 2017
4. S1 : Universitas Islam Sultan Agung Lulus Tahun 2021
5. Profesi Dokter FK : Universitas Islam Sultan Agung Lulus Tahun 2023
6. Magister Biomedik FK Unissula : Tahun 2024-sekarang

C. Riwayat Keluarga

Nama Istri : Wisda Nugraheny Novalia
Nama Anak : -

KATA PENGANTAR



Dengan memanjatkan Puji dan Syukur Kehadirat Allah SWT atas segala Rahmat dan Karunianya pada penulis, akhirnya penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis yang berjudul: **PENGARUH KOMBINASI GEL *CENTELLA ASIATICA* (PEGAGAN) DAN *CHANNA STRIATA* (IKAN GABUS) ORAL TERHADAP TNF- α DAN IL6 (Studi Eksperimental pada Luka Insisi Tikus Galur Wistar Model Diabetes yang Diinduksi Streptozotocin dan Nicotinamide dan Dilukai Insisi).** Tesis ditulis dalam rangka memenuhi salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Magister (S.2) Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Penulis menyadari bahwa tesis dapat diselesaikan berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis berterima kasih kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung memberikan kontribusi dalam menyelesaikan Tesis ini. Penulis ingin menyampaikan terima kasih sedalam-dalamnya kepada :

1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH., M. Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung beserta para wakil rektor yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh dan menyelesaikan pendidikan Magister Biomedik.
2. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H.,Sp.KF selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang sekaligus

pembimbing I dalam penelitian yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan thesis.

4. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes selaku pembimbing II dalam penelitian yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan thesis.
5. Dr. dr. Setyo Trisnadi, SH, Sp. KF selaku Penguji I yang bersedia memberikan masukan dan saran kepada penulis untuk memperbaiki dan meningkatkan kualitas penulisan thesis.
6. Dr. dr. Chodidjah, M.Kes selaku Penguji II yang bersedia memberikan masukan dan saran kepada penulis untuk memperbaiki dan meningkatkan kualitas penulisan thesis.
7. Dr. Suparmi, S.Si, M.Si (ERT) selaku Penguji III yang bersedia memberikan masukan dan saran kepada penulis untuk memperbaiki dan meningkatkan kualitas penulisan thesis.
8. Seluruh tenaga pendidik dan staff administrasi di Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang secara langsung atau tidak langsung telah memberi bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan penulisan tesis.
9. Istri saya dr. Wisda Nugraheny Novalia yang senantiasa mendukung setiap langkah dalam penyusunan tesis ini.
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan dalam penyusunan tesis ini, terimakasih atas dukungannya.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan penelitian ini. Oleh karena itu, saran-saran yang membangun dari manapun akan diterima dengan terbuka. Harapan penulis semoga penelitian ini bermanfaat untuk berbagai pihak. Aamiin yaa rabbal alamin.

Semarang, 20 Februari 2026

Penulis,



Dimas Irfan Nabih



ABSTRAK

Latar belakang: Luka pada diabetes sering disertai inflamasi persisten dan peningkatan sitokin proinflamasi, terutama IL-6 dan TNF- α . Kombinasi gel Pegagan topikal dan ekstrak Ikan Gabus oral berpotensi menekan inflamasi pada proses penyembuhan luka diabetes. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian kombinasi tersebut terhadap kadar IL-6 serum dan TNF- α jaringan pada tikus model luka diabetes.

Metode: Penelitian eksperimental *post-test only control group design* pada tikus Wistar model diabetes yang diinduksi nicotinamide 120 mg/kgBB diikuti streptozotocin 65 mg/kgBB. Terdapat 5 kelompok (n=5/kelompok): K1 non-DM (base gel+aquadest), K2 DM kontrol, K3 DM+ikan gabus oral 2 mL (100 mg/100 gBB)+base gel, K4 DM+gel pegagan 10%+aquadest, dan K5 kombinasi ikan gabus oral+gel pegagan 10%. Luka insisi ± 2 cm dibuat di punggung, terapi diberikan 1 $\times$ /hari selama 7 hari. GDS diperiksa sebelum terapi dan saat terminasi. IL-6 serum serta TNF- α jaringan luka diperiksa dengan ELISA.

Hasil: Sebelum terapi, GDS kelompok non-DM $104,2 \pm 11,78$ mg/dL, sedangkan kelompok DM berada pada kisaran 344,6–396,2 mg/dL. Saat terminasi, perbedaan GDS antar kelompok DM tidak bermakna ($p=0,645$). Kadar IL-6 berbeda bermakna antar kelompok ($p=0,008$), dengan rerata tertinggi pada DM kontrol/K2 ($6,478 \pm 1,256$) dan lebih rendah pada K3 ($4,064 \pm 0,509$) serta K5 ($4,708 \pm 0,609$); IL-6 K2 lebih tinggi signifikan dibanding K3 ($p=0,004$) dan K5 ($p=0,043$). Kadar TNF- α jaringan luka tidak berbeda bermakna antar kelompok ($p=0,100$), meskipun rerata tertinggi tampak pada kelompok kombinasi/K5 ($252,83 \pm 5,83$).

Kesimpulan: Kadar IL-6 serum pada kelompok kombinasi gel pegagan 10% topikal dan ikan gabus oral lebih rendah secara signifikan pada model luka diabetes, namun kadar TNF- α jaringan luka tidak berbeda secara bermakna.

Kata kunci: *Centella asiatica*; *Channa striata*; luka diabetes; IL-6; TNF- α .

ABSTRACT

Background: Diabetic wounds often involve prolonged inflammation marked by increased pro-inflammatory cytokines like IL-6 and TNF- α . A combination of topical *Centella asiatica* (CA) gel and oral *Channa striata* (CS) extract may modulate this response. This study aimed to analyze the effect of this combination on serum IL-6 and tissue TNF- α levels in a diabetic wound rat model.

Methods: An experimental post-test only control group study was conducted in Wistar rats. Diabetes was induced by nicotinamide (120 mg/kgBW) and streptozotocin (65 mg/kgBW). Five groups (n=5) included: K1 non-diabetic, K2 diabetic control, K3 diabetic + oral CS extract 2 mL (100 mg/100 gBW), K4 diabetic + topical CA gel 10%, and K5 combination (oral CS + topical CA 10%). A ± 2 cm dorsal incision was treated daily for 7 days. Random blood glucose (RBG) was measured before treatment and at termination. Serum IL-6 and wound tissue TNF- α were assessed by ELISA.

Results: Baseline RBG was 104.2 ± 11.78 mg/dL (non-diabetic) and $344.6\text{--}396.2$ mg/dL (diabetic). At termination, RBG among diabetic groups did not differ ($p=0.645$). Serum IL-6 differed significantly ($p=0.008$), with highest levels in K2 (6.478 ± 1.256) compared to K3 (4.064 ± 0.509) and K5 (4.708 ± 0.609). K2 was significantly higher than K3 ($p=0.004$) and K5 ($p=0.043$). Wound tissue TNF- α showed no significant differences ($p=0.100$), although K5 had the highest mean (252.83 ± 5.83).

Conclusion: Serum IL-6 levels in the group treated with combined topical 10% CA gel and oral CS extract were significantly lower in the diabetic wound model, whereas wound tissue TNF- α levels did not differ significantly.

Keywords: *Centella asiatica*; *Channa striata*; diabetic wound; IL-6; TNF- α .

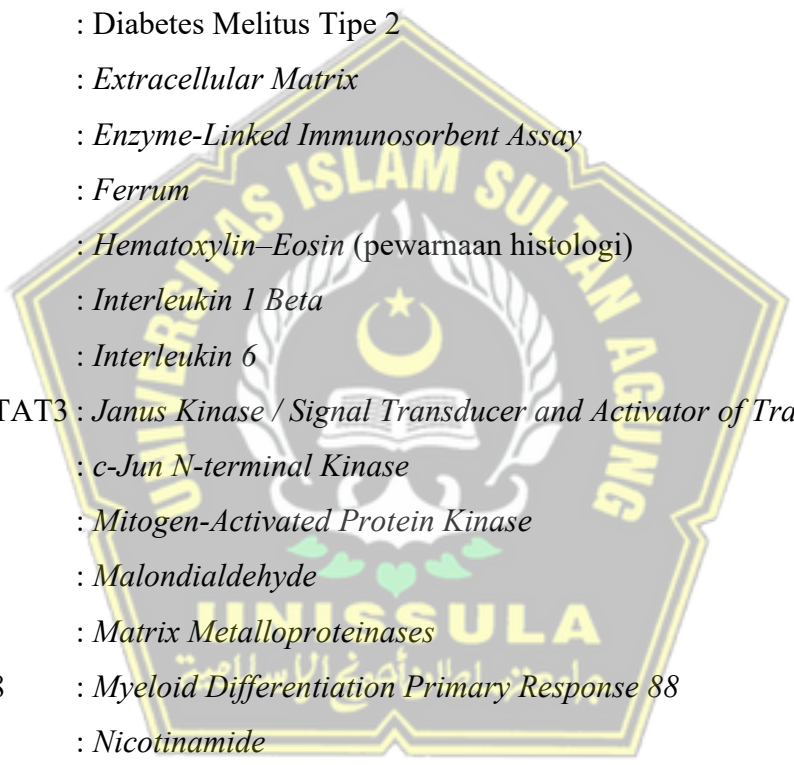
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN.....	iv
RIWAYAT HIDUP.....	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK.....	ix
<i>ABSTRACT</i>	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR SINGKATAN	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum.....	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat penelitian.....	5
1.4.1. Manfaat Teoritis	5
1.4.2. Manfaat Praktis.....	5
1.5. Originalitas Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	12
2.1. <i>Tumor Necrosis Factor-alpha</i>	12
2.1.1. Struktur.....	12
2.1.2. Faktor yang berpengaruh pada TNF- α	15
2.1.3. TNF- α pada Kondisi Diabetes.....	17
2.1.4. Peran TNF- α pada Proses Penyembuhan Luka Diabetik	18
2.2. <i>Interleukin 6</i>	20

2.2.1. Struktur	20
2.2.2. Faktor yang Mempengaruhi Kadar IL-6.....	21
2.2.3. IL-6 pada Kondisi Diabetes.....	23
2.2.4. Peran IL-6 pada Proses Penyembuhan Luka Diabetik	24
2.3. Pegagan	25
2.3.1. Kandungan Bioaktif.....	25
2.3.2. Senyawa Aktif	26
2.3.3. Gel Pegagan.....	30
2.4. Ikan gabus	32
2.4.1. Peran Dalam Proses Penyembuhan Luka	33
2.4.2. Oral ikan gabus.....	35
2.5. Diabetes Mellitus.....	36
2.5.1. Definisi	37
2.5.2. Klasifikasi.....	37
2.5.3. Patofisiologi DM	37
2.6. Luka pada Diabetes	40
2.6.1. Definisi Luka pada Diabetes	40
2.6.2. Mekanisme Gangguan Penyembuhan Luka pada Diabetes.....	41
2.6.3. Klasifikasi Luka Diabetik.....	42
2.6.4. Faktor-faktor yang Memengaruhi Luka Diabetes	43
2.7. Efek Kombinasi Terapi Gel Pegagan dan ikan gabus Oral Terhadap Kadar TNF-Alpha dan IL-6 pada Luka Kondisi Diabetes	45
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS	49
3.1. Kerangka Teori.....	49
3.2. Kerangka Konsep	52
3.3. Hipotesis.....	52
BAB IV METODE PENELITIAN	53
4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	53
4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	54
4.2.1. Variabel Penelitian	54
4.2.2. Definisi Operasional.....	55

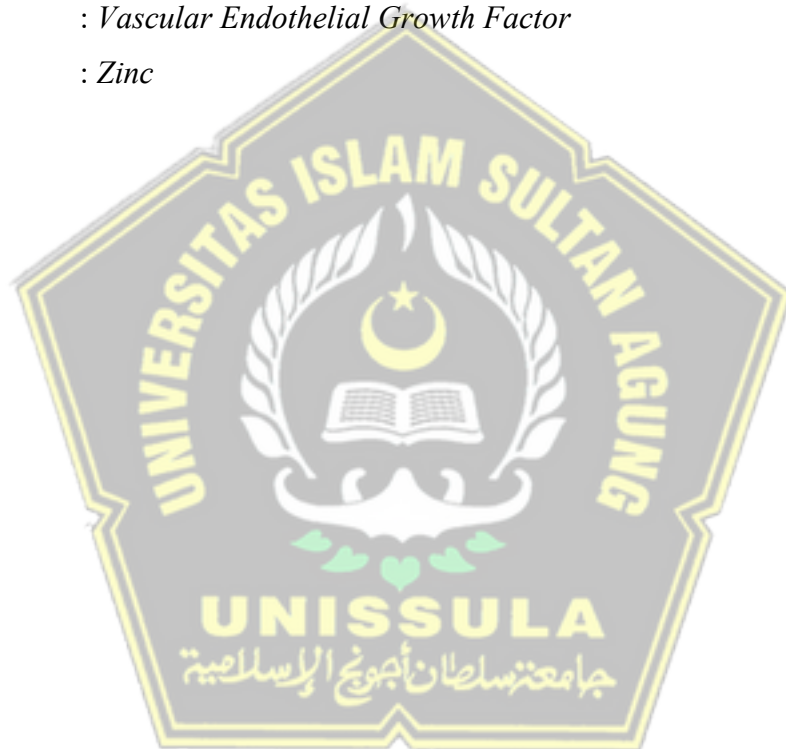
4.3. Subjek Penelitian dan Sampel Penelitian	58
4.3.1. Subjek Penelitian	58
4.3.2. Sampel Penelitian	58
4.3.3. Cara Penentuan Sampel Penelitian	59
4.4. Alat dan Bahan	60
4.4.1. Alat	60
4.4.2. Bahan	60
4.5. Cara Penelitian	61
4.5.1. Perolehan <i>Ethical Clearance</i>	61
4.5.2. Pembuatan Ekstrak Pegagan	61
4.5.3. Pembuatan Gel Pegagan	62
4.5.4. Pembuatan Ekstrak ikan gabus Oral	63
4.5.5. Metode Pembuatan Model Luka pada tikus Diabetes	64
4.5.6. Metode Pembacaan ELISA untuk TNF- α dan IL-6	65
4.6. Tempat dan Waktu Penelitian	67
4.7. Analisa Data	67
4.8. Alur Penelitian	69
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	70
5.1. Hasil Penelitian	70
5.2. Diskusi Penelitian	82
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	88
6.1. Kesimpulan	88
6.2. Saran	89
DAFTAR PUSTAKA	90
LAMPIRAN	97

DAFTAR SINGKATAN



ADAM17	: <i>A Disintegrin And Metalloproteinase 17</i>
AGE	: <i>Advanced Glycation End-products</i>
CQA	: <i>Caffeoylquinic Acid</i>
Cu	: <i>Cuprum</i>
CA	: <i>Centella Asiatica</i>
CS	: <i>Channa Striata</i>
DMT2	: <i>Diabetes Melitus Tipe 2</i>
ECM	: <i>Extracellular Matrix</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
Fe	: <i>Ferrum</i>
HE	: <i>Hematoxylin–Eosin (pewarnaan histologi)</i>
IL-1 β	: <i>Interleukin 1 Beta</i>
IL-6	: <i>Interleukin 6</i>
JAK/STAT3	: <i>Janus Kinase / Signal Transducer and Activator of Transcription 3</i>
JNK	: <i>c-Jun N-terminal Kinase</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
MMPs	: <i>Matrix Metalloproteinases</i>
MyD88	: <i>Myeloid Differentiation Primary Response 88</i>
NA	: <i>Nicotinamide</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
NLRP3	: <i>NOD-like Receptor Family Pyrin Domain Containing 3</i>
PI3K/Akt	: <i>Phosphoinositide 3-Kinase / Protein Kinase B</i>
RAGE	: <i>Receptor for Advanced Glycation End-products</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
sIL-6R	: <i>Soluble Interleukin-6 Receptor</i>
sTNF- α	: <i>Soluble Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
SOCS3	: <i>Suppressor of Cytokine Signaling 3</i>

SOD	: <i>Superoxide Dismutase</i>
STZ	: <i>Streptozotocin</i>
TLR4	: <i>Toll-like Receptor 4</i>
tmTNF- α	: <i>Transmembrane Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
TNFR1	: <i>Tumor Necrosis Factor Receptor 1</i>
TNFR2	: <i>Tumor Necrosis Factor Receptor 2</i>
UT score	: <i>University of Texas Wound Classification System</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
Zn	: <i>Zinc</i>



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Struktur kristal TNF- α .	13
Gambar 2.2.	Faktor yang mempengaruhi TNF- α .	17
Gambar 2.3.	Struktur kristal IL-6.	21
Gambar 2.4.	Tanaman Pegagan (<i>Centella asiatica</i>).	26
Gambar 2.5.	Struktur Kimia <i>Asiaticoside</i> .	27
Gambar 2.6.	Struktur Kimia Madecassoside.	29
Gambar 2.7.	Patofisiologi infeksi kaki diabetik berkaitan dengan berbagai faktor risiko.	40
Gambar 2.8.	Klasifikasi luka kaki diabetik <i>UT score</i>	43
Gambar 3.1.	Kerangka Berpikir	51
Gambar 3.2.	Kerangka Konsep	52
Gambar 4.1.	Rancangan Penelitian	53
Gambar 4.2.	Alur Penelitian	69
Gambar 5.1.	Kurva Baku Kuersetin.	71
Gambar 5.2.	Perbandingan rerata kadar gula darah sewaktu (GDS) sebelum (pra) dan sesudah (pasca) perlakuan pada masing-masing kelompok (K1–K5). Nilai disajikan dalam rerata $\pm$ simpangan baku (SD).	78

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Klasifikasi Etiologi Diabetes Mellitus	37
Tabel 5.1.	Hasil uji fitokimia ekstrak etanol pegagan.	70
Tabel 5.2.	Data standar kurva baku flavonoid (kuersetin).....	70
Tabel 5.3.	Hasil pengukuran kadar flavonoid sampel ekstrak etanol pegagan.	71
Tabel 5.4.	Statistik deskriptif GDS Pra perlakuan per kelompok.....	72
Tabel 5.5.	Uji normalitas GDS pra perlakuan	73
Tabel 5.6.	Uji homogenitas varians GDS pra perlakuan	73
Tabel 5.7.	Uji perbedaan rerata GDS Pra perlakuan antar kelompok (ANOVA dan Welch).....	74
Tabel 5.8.	Statistik deskriptif GDS pasca perlakuan per kelompok	74
Tabel 5.9.	Uji normalitas GDS pasca perlakuan	75
Tabel 5.10.	Uji homogenitas varians GDS pasca perlakuan	75
Tabel 5.11.	Uji Wilcoxon berpasangan GDS pra perlakuan vs GDS pasca perlakuan per kelompok.....	75
Tabel 5.12.	Statistik deskriptif Δ GDS per kelompok.	76
Tabel 5.13.	Uji normalitas Δ GDS.....	77
Tabel 5.14.	Uji homogenitas varians Δ GDS.....	77
Tabel 5.15.	Uji perbandingan Δ GDS antar kelompok (One-Way ANOVA)	77
Tabel 5.16.	Uji lanjut Tukey HSD Δ GDS (semua pasangan kelompok)..... Error! Bookmark not defined.	
Tabel 5.17.	Hasil uji statistik deskriptif ekspresi IL-6 darah.	78
Tabel 5.18.	Hasil uji normalitas ekspresi IL-6 darah dengan Shapiro–Wilk ($p>0,05$ = normal) dan uji homogenitas varians menggunakan Levene ($p>0,05$ = homogen).....	79
Tabel 5.19.	Hasil uji One Way ANOVA untuk IL-6 (* mengindikasikan $p<0,05$ bermakna).	79
Tabel 5.20.	Hasil uji Post Hoc Tukey untuk IL-6 (* mengindikasikan $p<0,05$ bermakna).	80
Tabel 5.21.	Hasil uji statistik deskriptif ekspresi TNF- α jaringan luka.	80

Tabel 5.22. Hasil uji normalitas ekspresi TNF- α jaringan luka dengan Shapiro–Wilk ($p > 0,05$ = normal) dan uji homogenitas varians menggunakan Levene ($p > 0,05$ = homogen).	81
Tabel 5.23. Hasil uji Kruskal Wallis untuk TNF- α	81



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Ijin Penelitian	97
Lampiran 2. <i>Ethical Clearance</i>	98
Lampiran 3. Surat Keterangan Hasil Penelitian	99
Lampiran 4. Hasil Pemeriksaan Laboratorium	102
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian	103
Lampiran 6. Hasil Pemeriksaan kandungan DRE Ecobumin.....	107



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Luka pada penderita diabetes mellitus yang tidak terkontrol sering berujung pada inflamasi persisten yang ditandai peningkatan TNF- α dan IL-6. Pendekatan tunggal berbasis *Centella asiatica* (Pegagan) menunjukkan penurunan mediator proinflamasi serta akselerasi penyembuhan saat diberikan secara topikal pada luka pasien diabetes, namun hasil pemulihan jaringan yang dicapai seringkali dilaporkan belum setara dengan kondisi fisiologis kulit sehat.¹⁻³ Intervensi *Channa striata* (Ikan Gabus) per oral memperlihatkan perbaikan parameter klinis penyembuhan pada hewan dan luka pasien diabetik, meskipun efektivitasnya sebagai terapi tunggal belum mampu mengembalikan parameter penyembuhan ke kadar normal sepenuhnya.⁴⁻⁷ Bukti ilmiah yang tersedia belum melaporkan evaluasi kombinasi gel pegagan sebagai terapi lokal dengan ikan gabus oral sebagai terapi sistemik luka pada kondisi diabetik dengan luaran molekuler TNF- α dan IL-6.

Prevalensi luka pada penderita diabetik terus meningkat seiring dengan pertumbuhan jumlah penderita diabetes. Hasil meta-analisis terhadap uji klinis acak dilaporkan bahwa sekitar 47,9% pasien diabetes memiliki risiko mengalami luka kaki selama hidupnya. Luka pada pasien diabetik dicirikan oleh disregulasi respons inflamasi, dimana hiperglikemia kronis menyebabkan aktivasi sitokin pro-inflamasi (seperti TNF- α dan IL-6) yang

berlebihan dan berkepanjangan. Pemilihan kedua sitokin ini sebagai variabel utama didasarkan pada peran sentralnya dalam patofisiologi luka kronis; dimana kadar TNF- α yang tinggi secara persisten memicu peningkatan aktivitas enzim proteolitik (MMP) yang mendegradasi matriks ekstraseluler, sedangkan IL-6 mempertahankan sinyal inflamasi yang menghambat transisi luka menuju fase proliferasi. Guna mendapatkan gambaran mekanisme penyembuhan yang komprehensif, penelitian ini menilai dua aspek respons inflamasi yang berbeda. Pengukuran kadar TNF- α dilakukan pada jaringan luka untuk melihat respons inflamasi regional (lokal) yang terjadi langsung pada area cedera, sedangkan pengukuran IL-6 diambil dari serum darah untuk mengevaluasi respons inflamasi sistemik yang mencerminkan kondisi tubuh secara umum akibat diabetes.⁸⁻¹⁰ Jika inflamasi ini tidak diteliti dan dikelola secara efektif, dapat terjadi kegagalan penyembuhan luka (*non-healing wound*) yang dengan cepat berlanjut menjadi ulkus kronis, infeksi berat, hingga nekrosis jaringan luas, yang pada akhirnya menuntut tindakan amputasi, dengan data angka amputasi yang tinggi (3%–61%) dan peningkatan angka kematian hingga 55% pada populasi tertentu. Beban ekonomi dan sosial yang ditimbulkan oleh luka diabetik cukup signifikan karena proses penyembuhannya yang lambat dan membutuhkan penanganan jangka panjang, sehingga dibutuhkan pendekatan terapi yang lebih efektif, terjangkau, dan aman untuk mempercepat penyembuhan luka pada pasien diabetes.¹¹

Pegagan mengandung triterpenoid saponin utama, terutama asiaticoside dan madecassoside yang telah terbukti merangsang proliferasi fibroblas, sintesis kolagen, re-epitelisasi, serta angiogenesis.¹²⁻¹⁵ Ikan gabus kaya albumin, asam amino esensial (misalnya arginin, leusin, lisin) serta mineral (termasuk Zn) dan asam lemak tak jenuh (omega-6/arakhidonat, DHA) yang berperan dalam modulasi inflamasi, antioksidasi, dan pembentukan jaringan baru. Studi ikan gabus per oral menunjukkan manfaat klinis penyembuhan luka diabetik, tetapi belum mengukur biomarker inflamasi utama secara bersamaan seperti TNF- α dan IL-6.^{4,6,7} Penelitian topikal pegagan pada manusia dan hewan mendemonstrasikan perbaikan derajat luka, peningkatan kolagen, angiogenesis, dan penurunan inflamasi, meskipun umumnya dievaluasi sebagai monoterapi atau dalam kombinasi yang tidak memasukkan ikan gabus, serta kerap tanpa penilaian simultan terhadap TNF- α dan IL-6 pada model diabetes.^{1-3,14} Kombinasi pegagan topikal dan ikan gabus oral pada luka insisi tikus diabetes belum pernah diteliti.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian gel pegagan dan ikan gabus oral terhadap kadar TNF- α dan IL6 pada luka insisi tikus galur Wistar model diabetes. Induksi diabetes pada tikus menggunakan streptozotocin dengan dosis 65 mg/kg berat badan, yang diberikan sebanyak satu kali melalui injeksi intraperitoneal selama 5 hari, yang dikombinasikan dengan nicotinamide 120 mg/kg berat badan melalui injeksi intraperitoneal sehari setelah pemberian streptozotocin. Parameter yang diamati adalah kadar TNF- α dan IL6, yang dianalisis menggunakan metode ELISA pada serum dan

jaringan luka insisi tikus. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai potensi terapi kombinasi gel pegagan dan ikan gabus dalam meningkatkan penyembuhan luka pada tikus model diabetes dengan mengatur respon inflamasi.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh kombinasi gel pegagan dan ikan gabus oral terhadap kadar TNF- α dan IL-6 pada luka insisi tikus galur Wistar model Diabetes yang Diinduksi Streptozotocin dan Nicotinamide?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk membuktikan pengaruh kombinasi gel pegagan dan ikan gabus oral terhadap kadar TNF- α dan IL-6 pada luka insisi tikus galur Wistar model Diabetes yang Diinduksi Streptozotocin dan Nicotinamide.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengukur kadar TNF- α dan IL-6 pada tikus galur wistar model diabetes yang diberi luka insisi setelah pemberian gel pegagan 10%
2. Mengukur kadar TNF- α dan IL-6 pada tikus galur wistar model diabetes yang diberi luka insisi setelah pemberian ikan gabus oral 2 mL (dosis 100mg/100gBB).

3. Mengukur kadar TNF- α dan IL-6 pada luka insisi tikus galur Wistar model Diabetes yang diberi kombinasi gel pegagan 10% dan ikan gabus oral 2mL (dosis 100mg/100gBB).
4. Menganalisis perbedaan kadar TNF- α dan IL-6 secara statistik antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada tikus galur wistar model Diabetes.

1.4. Manfaat penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan ilmiah mengenai potensi kombinasi gel pegagan dan ikan gabus oral dalam menurunkan kadar sitokin inflamasi TNF- α dan IL-6 pada luka insisi pada tikus model diabetes, serta memberikan dasar biologis dalam pengembangan terapi berbasis herbal untuk luka kronis pada pasien diabetes.

1.4.2. Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat mendorong pemanfaatan kombinasi gel pegagan dan ikan gabus oral sebagai alternatif atau terapi adjuvan untuk membantu penyembuhan luka pada pasien diabetes, khususnya yang disebabkan oleh inflamasi kronis.

1.5. Originalitas Penelitian

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian

No	Penulis (Tahun)	Judul Studi	Sampel & Model	Metode & Sediaan	Parameter	Hasil Utama
1	Kuo <i>et al.</i> (2012)	<i>Centella asiatica & Plectranthus Cream for Diabetic Foot Ulcers</i>	Pasien DM tipe 1 & 2 – luka kaki Wagner grade 3	Krim topikal (kombinasi <i>Centella asiatica</i> + <i>Plectranthus amboinicus</i>), 2×/hari selama 14 hari	Ukuran & grade luka	90% pasien alami perbaikan grade, setara dengan balutan
2	Apriasiari & Puspitasari (2018)	<i>Effect of Channa micropeltes in Diabetic Wound Healing</i>	Tikus Wistar – luka diabetes	Sediaan cair oral: ekstrak <i>Channa micropeltes</i> (toman) 16 mL/kgBB, diberikan 2×/hari selama 14 hari	Limfosit, fibroblas (histologi HE)	Peningkatan fibroblas & limfosit, terbaik hari ke-4
3	Syed Hassan S.A.A. (2020)	<i>Effect of Oral Channa striatus in Laparotomy Wound Healing of Malnourished Rats</i>	40 tikus jantan Wistar Kyoto, model malnutrisi (penurunan BB 10-12%); luka laparotomi 4 cm	Paska operasi diberi <i>Channa striatus</i> oral 100 mg/100 g BB tiap hari selama 7 hari	Tensile strength luka; jumlah fibroblas & epitel; kadar hidroksi prolin jaringan	Kelompok <i>Channa striatus</i> lebih baik dalam tensile strength, fibroblas, hidroksiprolin; epitelisasi tidak berbeda bermakna
4	Fernando V.N <i>et al.</i> (2020)	<i>Effectiveness Test of Centella Asiatica Extract on Improvement of Collagen and Hydration in Female White Rat</i>	25 tikus betina Wistar, kulit punggung; paparan matahari sebelum perlakuan	Krim <i>Centella asiatica</i> topikal 2.5%, 5%, 7.5%, 10% dioles 2x/hari selama 4 minggu	Kadar kolagen kulit; kadar hidrasi kulit	Konsentrasi 10% memberikan kenaikan kolagen tertinggi (77.89%) dan hidrasi (81.58%) dibanding kelompok lain/kontrol

		(Rattus norvegicus Wistar)				
5	Nurdina et al. (2021)	<i>Effects of Centella asiatica Extract in TNF-α Levels</i>	Tikus Sprague Dawley – mastitis akibat S. aureus	Ekstrak daun <i>C. asiatica</i> 100 mg/kgBB (oral suspensi), diberikan 2×/hari selama 5 hari	TNF-α (ELISA)	Penurunan signifikan kadar TNF-α pada hari ke-6
6	Liu et al. (2022)	<i>Centella asiatica Nitric Oxide Gel for Diabetic Cutaneous Ulcers</i>	Tikus Sprague Dawley luka diabetes	Gel topikal (kombinasi <i>Centella asiatica total glycoside</i> + NO), 8% formulasi	Histologi luka, keamanaan kulit & reproduksi	Menurunkan inflamasi, aman, mempercepat penyembuhan
7	Dewi et al. (2023)	<i>The Effect of Topical Gel Ethanol Extract of Gotu Kola Leaf (Centella asiatica) on Wound Healing in STZ-Induced Rats</i>	Rattus norvegicus jantan; model diabetes diinduksi streptozotocin; luka dinilai makroskopik hari ke-4, 7, 11, 14	Gel etanol <i>C. asiatica</i> topikal 2,5%; 5%; 10% (harian) vs kontrol	Laju penyembuhan luka/penyusutan panjang luka (observasi makroskopis)	Semua konsentrasi mempercepat penyembuhan; 5% menunjukkan perbaikan tercepat; uji ANOVA menunjukkan pengaruh sangat bermakna (p=0,000).
8	Idramsyah et al. (2024)	<i>Channa striata Extract Nutrition for Diabetic Foot Ulcers</i>	Pasien DM dengan luka kaki	Ekstrak oral dalam bentuk kapsul (550 mg/hari), 4 minggu	BWAT wound score	Perbaikan signifikan fase inflamasi, proliferasi, maturasi
9	Revianti et al. (2024)	<i>Channa striata Gelatin Extract on Traumatic Ulcers</i>	Tikus Wistar – luka labial traumatik	Gel topikal (kulit ikan <i>Channa striata</i> , 25–75%) selama 7 hari	Diameter luka, MDA, katalase, kolagen	25% gelatin paling efektif tingkatan kolagen & antioksidan

Telah dilakukan sejumlah penelitian yang mengkaji potensi terapi dari ikan gabus maupun Pegagan dalam penyembuhan luka, khususnya yang berkaitan dengan komplikasi diabetes. Apriasari dan Puspitasari (2018) melakukan studi eksperimental pada tikus Wistar jantan model luka diabetes, yang diberi ekstrak oral *Channa micropeltes* dan ikan gabus. Hasil penelitian menunjukkan peningkatan signifikan jumlah limfosit dan fibroblas, terutama pada hari ke-4, yang mengindikasikan aktivitas imun dan regenerasi jaringan yang meningkat. Studi ini menegaskan potensi oral dari *Channa micropeltes* sebagai terapi alternatif luka diabetes, meskipun belum mengevaluasi kadar molekuler sitokin proinflamasi.¹⁶

Studi lanjutan oleh Idramsyah *et al.* (2024) memperluas pendekatan ini pada manusia, dengan melibatkan pasien diabetes yang mengalami luka kaki. Pemberian oral ikan gabus selama empat minggu menghasilkan peningkatan skor penyembuhan luka secara signifikan menurut metode BWAT. Namun, studi ini tidak melibatkan pengukuran biomarker inflamasi seperti TNF- α atau IL-6, dan terbatas pada evaluasi klinis.¹⁷ Penelitian lain oleh Revianti *et al.* (2024) meneliti penggunaan topikal gelatin kulit ikan gabus pada tikus Wistar dengan luka traumatik. Hasilnya menunjukkan peningkatan densitas kolagen dan aktivitas antioksidan melalui penurunan kadar MDA dan peningkatan katalase. Namun, fokus penelitian tersebut lebih kepada efek antioksidan dan belum menyentuh konteks luka diabetik maupun jalur inflamasi molekuler.¹⁸

pegagan juga telah banyak diteliti sebagai agen topikal penyembuh luka. Nurdin *et al.* (2021) menggunakan model mastitis pada tikus *Sprague Dawley* dan menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun pegagan secara signifikan menurunkan kadar $\text{TNF-}\alpha$, baik secara tunggal maupun dalam kombinasi dengan antibiotik. Walaupun relevan dalam konteks inflamasi, model penyakit yang digunakan bukanlah luka diabetik.¹⁹ Penelitian oleh Kuo *et al.* (2012) menunjukkan bahwa krim kombinasi pegagan dan *Plectranthus amboinicus* pada pasien diabetes dengan luka kaki memberikan hasil klinis yang setara dengan balutan hidrokolloid, meskipun tidak melibatkan biomarker inflamasi atau pengukuran histologis.²⁰ Sementara itu, Liu *et al.* (2022) mengembangkan formulasi gel pegagan dengan nitric oxide untuk pengobatan luka diabetes pada model hewan. Gel ini terbukti aman dan mampu mempercepat penyembuhan luka melalui peningkatan angiogenesis dan penghambatan inflamasi, namun tidak mengkaji jalur oral ataupun efek sistemik.²¹ Dewi *et al.* (2023) mengevaluasi gel etanol daun pegagan topikal pada tikus jantan yang diinduksi streptozotosin (STZ), membagi 20 hewan ke empat kelompok (kontrol, 2,5%, 5%, 10%) dan menilai penyembuhan luka secara makroskopik pada hari ke-4, 7, 11, dan 14; seluruh konsentrasi mempercepat kontraksi luka dengan signifikansi sangat kuat ($p=0,000$), dengan temuan terbaik pada konsentrasi 5%.²² Berbeda dari studi tersebut yang hanya menilai luaran klinis makroskopik pada model DM-STZ, penelitian ini menggunakan model luka insisi pada tikus Wistar diabetes yang diinduksi STZ+nikotinamid, mengkombinasikan gel pegagan topikal dengan

ekstrak ikan gabus oral sebagai intervensi kombinasi, serta menilai biomarker inflamasi molekuler (TNF- α dan IL-6 dengan ELISA) sebagai luaran utama, sehingga menguji potensi sinergi antiradang dan memberikan kedalaman mekanistik yang belum dieksplor.

Syed Hassan S.A.A *et al.* (2020) menunjukkan bahwa *Channa striata* oral 100mg/100gBB selama 7 hari pada tikus Wistar Kyoto malnutrisi pascalaparotomi meningkatkan tensile strength, jumlah fibroblas, dan hidroksiprolin, namun tidak memakai model luka diabetik atau menilai sitokin.⁷ Venesia *et al.* (2020) menemukan krim *Centella asiatica* topikal (terbaik 10%) pada tikus Wistar betina meningkatkan kolagen dan hidrasi kulit setelah 4 minggu, juga tanpa model diabetik dan tanpa pengukuran TNF- α /IL-6.¹⁴ Berbeda dari keduanya, studi ini menguji kombinasi Ikan gabus oral dan *Centella asiatica* gel pada model luka diabetik STZ–nikotinamid, dengan TNF- α dan IL-6 sebagai luaran utama, sehingga menilai potensi sinergi efek sistemik–lokal pada inflamasi selain perbaikan struktur jaringan.

Berdasarkan uraian tersebut, terlihat bahwa sebagian besar penelitian sebelumnya menggunakan pendekatan tunggal baik gel pegagan maupun oral ikan gabus dan sebagian besar hanya mengevaluasi hasil secara klinis atau histologis tanpa menyentuh mekanisme inflamasi secara molekuler. Penelitian yang akan dilakukan ini menawarkan kebaruan ilmiah berupa penggunaan kombinasi terapi oral ikan gabus dan gel pegagan pada model luka diabetik in vivo, disertai dengan analisis kadar dua sitokin proinflamasi utama: TNF- α dan IL-6. Kombinasi ini belum pernah dieksplorasi

sebelumnya dalam satu desain penelitian, dan memiliki potensi untuk memperkuat pendekatan terapeutik komplementer dalam pengelolaan luka kronik pada pasien diabetes. Hal ini menjadikan penelitian ini relevan secara klinis, sekaligus memberikan kontribusi penting terhadap pemahaman mekanisme imunologis dalam penyembuhan luka pada kondisi diabetes.



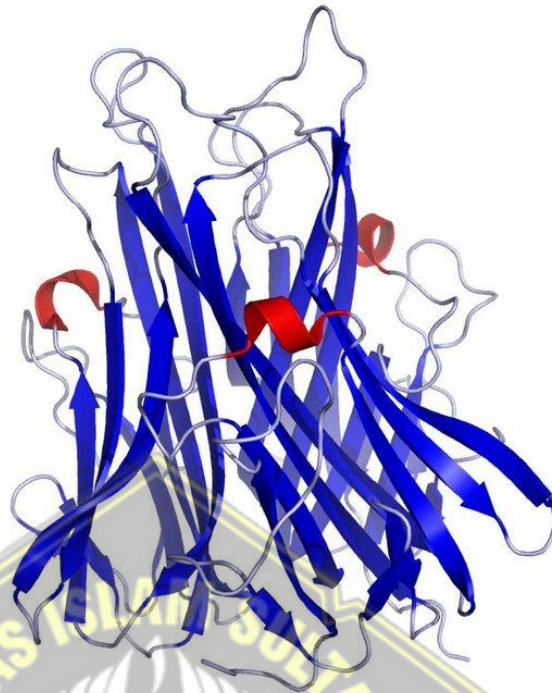
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Tumor Necrosis Factor-alpha*

2.1.1. Struktur

Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α) merupakan sitokin proinflamasi yang termasuk dalam *superfamily TNF* dan memiliki peran sentral dalam pengaturan proses imun, inflamasi, hingga regenerasi jaringan.²³ Struktur TNF- α yang tampak pada Gambar 2.1 didominasi oleh lembar β (*beta-sheet*) yang ditampilkan dalam warna biru dan membentuk konfigurasi khas yang dikenal sebagai “ β -sandwich” atau “*jelly roll fold*”, yang menjaga stabilitas protein dalam lingkungan ekstraseluler. Bagian berwarna merah merepresentasikan struktur heliks α (alpha-helix) yang berfungsi dalam menjaga fleksibilitas dan interaksi antar-subunit.



Gambar 2.1. Struktur kristal TNF- α .²⁴

TNF- α sendiri umumnya berbentuk homotrimer, di mana tiga monomer seperti pada gambar akan berikatan membentuk kompleks aktif yang kemudian berinteraksi dengan reseptor permukaan sel (TNFR1/TNFR2) untuk menginduksi sinyal inflamasi.²⁴ Sitokin ini pertama kali diidentifikasi pada tahun 1975 sebagai faktor sitotoksik yang mampu menyebabkan nekrosis tumor pada model hewan, tetapi kemudian diketahui memiliki fungsi yang jauh lebih luas, tidak hanya terkait dengan onkologi, tetapi juga dengan regulasi imun, metabolisme, hingga proses penyembuhan luka.²⁵ Secara struktur, TNF- α disintesis sebagai protein transmembran tipe II dengan panjang 212 asam amino dan berat molekul 26 kDa yang terdiri dari tiga domain utama, yaitu domain sitoplasmik, transmembran, dan

ekstraseluler. Setelah translasi, TNF- α mengalami pembentukan homotrimer yang aktif melalui pemotongan proteolitik oleh enzim *TNF- α converting enzyme* (TACE) sehingga menghasilkan bentuk larut dengan berat molekul 17 kDa.^{23,26}

Bentuk transmembran TNF- α (tmTNF- α) dan bentuk larutnya (sTNF- α) memiliki aktivitas biologis yang berbeda karena masing-masing dapat berikatan dengan dua jenis reseptor utama, yaitu *TNF Receptor 1* (TNFR1) dan *TNF Receptor 2* (TNFR2). TNFR1 diekspresikan secara luas hampir di semua jaringan dan dapat diaktivasi oleh kedua bentuk TNF- α , sedangkan TNFR2 diekspresikan lebih selektif, terutama pada sel-sel imun, endotel, subset neuron, dan kardiomyosit, serta hanya diaktivasi oleh bentuk transmembran TNF- α .²⁷ Jalur pensinyalan yang diaktivasi oleh TNFR1 dapat memicu berbagai respon seluler, termasuk aktivasi faktor transkripsi NF- κ B, MAPK, dan JNK yang berperan dalam ekspresi gen proinflamasi, proliferasi sel, dan kelangsungan hidup sel.²⁶ Sebaliknya, kegagalan pembentukan kompleks pro-survival akan mengalihkan sinyal menuju pembentukan kompleks IIa/IIb yang memediasi apoptosis melalui kaspase-8 atau kompleks IIc yang memicu nekroptosis.^{23,26}

Aktivasi TNFR1 dan TNFR2 juga dapat membentuk *feedback loop* antara TNF- α dan NF- κ B yang mempertahankan respon inflamasi. Aktivasi NF- κ B oleh TNF- α tidak hanya meningkatkan

ekspresi gen proinflamasi seperti IL-1 β , IL-6, dan TNF- α itu sendiri, tetapi juga menghambat apoptosis pada kondisi tertentu sehingga memungkinkan sel imun bertahan lebih lama di area inflamasi.²⁶ Regulasi ketat kadar TNF- α sangat penting, sebab ekspresi berlebihan atau berkepanjangan dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan inflamasi kronis, termasuk pada kondisi patologis seperti diabetes melitus dan ulkus diabetik.²⁸

2.1.2. Faktor yang berpengaruh pada TNF- α

Kadar dan ekspresi TNF- α pada manusia ditentukan oleh interaksi kompleks antara faktor genetik, status metabolik, pola makan, aktivitas fisik, kualitas tidur, serta kebiasaan hidup lain yang memodulasi derajat inflamasi sistemik. Secara fisiologis, TNF- α diproduksi terutama oleh makrofag dan sel imun lain sebagai respons terhadap berbagai stimulus inflamasi, namun pada kondisi obesitas dan sindrom metabolik, jaringan adiposa khususnya lemak visceral yang menjadi sumber penting sitokin ini. Studi menunjukkan bahwa individu overweight dan obes memiliki kadar TNF- α serum yang lebih tinggi, yang berkorelasi dengan komponen sindrom metabolik, resistensi insulin, dan penanda inflamasi lain seperti CRP dan IL-6.²⁹

Faktor gaya hidup memiliki kontribusi besar dalam memperkuat atau menurunkan inflamasi yang dimediasi TNF- α . Pola makan tinggi kalori, kaya lemak jenuh dan gula sederhana, serta miskin serat dan antioksidan terbukti berhubungan dengan peningkatan penanda

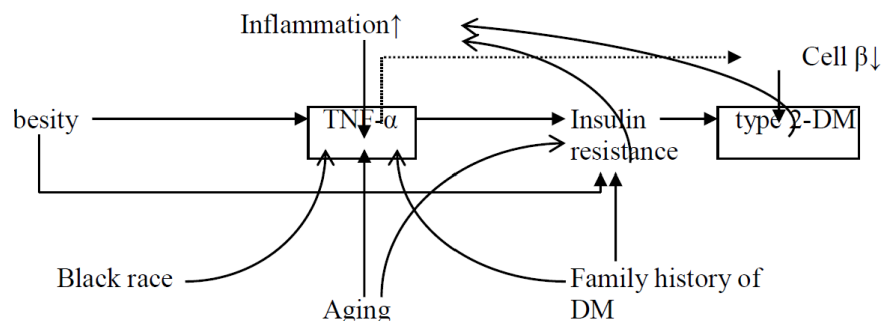
inflamasi sistemik dan fenomena “*inflammaging*”, sedangkan pola makan yang lebih sehat seperti diet Mediterania dan pola makan berbasis nabati cenderung menurunkan biomarker inflamasi, termasuk TNF- α , meskipun derajat penurunan tidak selalu seragam pada semua studi.³⁰ Aktivitas fisik teratur, terutama latihan aerobik intensitas sedang hingga tinggi selama beberapa minggu, dilaporkan mampu menurunkan kadar TNF- α pada lansia maupun pasien dengan penyakit kronik, sekaligus memperbaiki profil kardiometabolik.³¹ Gaya hidup sedentari, merokok, dan asupan makanan pro-inflamasi berkebalikan dengan aktivitas fisik akan mempertahankan keadaan inflamasi derajat rendah yang tercermin dari kadar TNF- α yang tetap tinggi.³²

Analisis gaya hidup multikomponen di populasi dewasa juga menunjukkan bahwa kombinasi obesitas, merokok, kurang aktivitas fisik, durasi dan kualitas tidur yang buruk, serta rendahnya konsumsi buah dan sayur berhubungan dengan peningkatan berbagai penanda inflamasi, termasuk TNF- α .³³ Dengan demikian, literatur mutakhir mengonfirmasi bahwa TNF- α tidak hanya dipengaruhi oleh predisposisi genetik dan proses patologis tertentu, tetapi sangat sensitif terhadap modulasi oleh faktor metabolik dan perilaku sehari-hari, sehingga intervensi gaya hidup (penurunan berat badan, perbaikan diet, peningkatan aktivitas fisik, serta optimasi tidur)

menjadi strategi kunci untuk menurunkan kadar TNF- α dan menekan inflamasi kronik.

2.1.3. TNF- α pada Kondisi Diabetes

Diabetes melitus tipe 2 (DMT2) merupakan penyakit metabolik kronis yang ditandai oleh hiperglikemia persisten akibat resistensi insulin, disfungsi sel β pankreas, dan inflamasi kronis tingkat rendah. Bukti ilmiah menunjukkan bahwa TNF- α merupakan salah satu mediator utama inflamasi yang memediasi resistensi insulin melalui mekanisme molekuler kompleks yang melibatkan aktivasi jalur NF- κ B, peningkatan produksi spesies oksigen reaktif (ROS), serta fosforilasi serin pada substrat reseptor insulin yang mengganggu transduksi sinyal insulin seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.2.³⁴ Pada jaringan adiposa penderita DMT2, kadar TNF- α meningkat signifikan dan berhubungan dengan peningkatan lipolisis, pelepasan asam lemak bebas, dan peradangan kronis yang semuanya berkontribusi terhadap gangguan metabolisme glukosa.²³



Gambar 2.2. Faktor yang mempengaruhi TNF- α .³⁴

Ekspresi TNF- α yang berlebihan pada penderita diabetes juga berkontribusi terhadap disfungsi endotel, kerusakan mikrovaskular, dan gangguan angiogenesis yang memperburuk komplikasi seperti ulkus diabetik.⁸ Pada tingkat seluler, TNF- α meningkatkan rekrutmen makrofag proinflamasi tipe M1 ke jaringan perifer, yang selanjutnya memperburuk inflamasi melalui pelepasan sitokin proinflamasi lain seperti IL-1 β dan IL-6.²⁶ Kondisi ini menciptakan lingkaran setan inflamasi yang mempertahankan keadaan hiperglikemia dan resistensi insulin, sekaligus menghambat proses regenerasi jaringan pada pasien dengan luka diabetik kronis.⁸

Lingkungan proinflamasi yang dipicu oleh TNF- α juga memengaruhi aktivitas *matrix metalloproteinases* (MMPs), yaitu enzim proteolitik yang mendegradasi matriks ekstraseluler dan faktor pertumbuhan seperti *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF). Peningkatan MMPs yang diinduksi TNF- α mengakibatkan hilangnya integritas jaringan, berkurangnya angiogenesis, dan kegagalan pembentukan jaringan granulasi yang esensial untuk penyembuhan luka.⁸ Hal ini menjelaskan mengapa pasien dengan ulkus diabetik kronis sering kali menunjukkan kadar TNF- α yang sangat tinggi di tepi luka yang tidak kunjung sembuh.

2.1.4. Peran TNF- α pada Proses Penyembuhan Luka Diabetik

Penyembuhan luka normal berlangsung melalui fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling jaringan. Pada fase inflamasi,

TNF- α berperan penting dalam merekrut neutrofil dan makrofag ke lokasi cedera, meningkatkan permeabilitas vaskular, dan merangsang ekspresi molekul adhesi yang memfasilitasi migrasi sel imun ke area luka.²⁸ Dalam jumlah yang tepat, TNF- α membantu membersihkan debris jaringan dan mikroorganisme patogen, sehingga mempersiapkan dasar untuk fase proliferasi. Namun, pada luka diabetik, kadar TNF- α yang tinggi dan bertahan lama mengakibatkan inflamasi kronis, apoptosis fibroblas, penurunan deposisi kolagen, serta hambatan transisi ke fase proliferasi.^{8,35}

Studi eksperimental pada model tikus diabetes menunjukkan bahwa blokade TNF- α menggunakan antibodi monoklonal atau agen anti-TNF- α lain mampu mengurangi infiltrasi leukosit, menekan aktivasi NF- κ B, meningkatkan deposisi kolagen, dan memperbaiki angiogenesis di tepi luka.²⁸ Temuan ini sejalan dengan penelitian klinis yang melaporkan bahwa penurunan kadar TNF- α di ulkus diabetik berkorelasi dengan peningkatan kadar VEGF, pembentukan jaringan granulasi yang lebih baik, dan percepatan epitelisasi luka.⁸

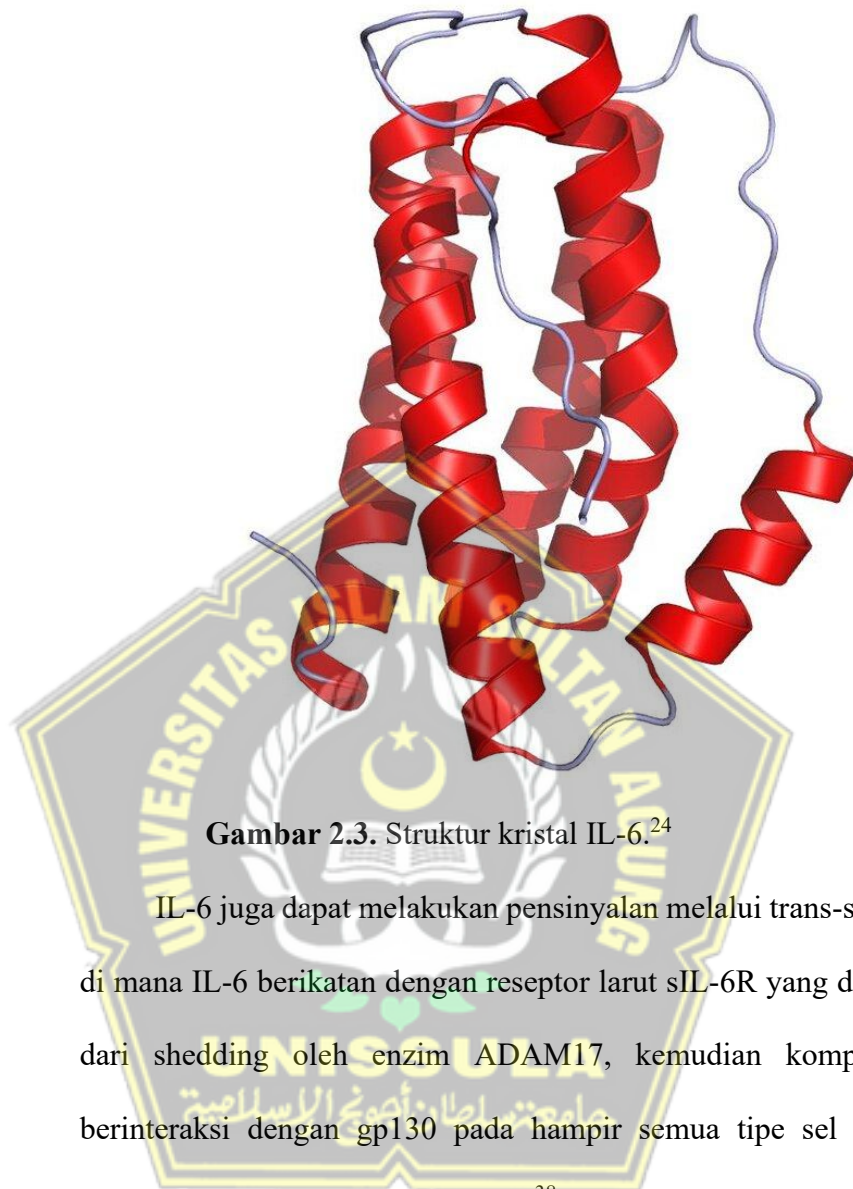
Dengan demikian, TNF- α memiliki sifat pedang bermata dua, di satu sisi diperlukan untuk memulai respon imun pada fase awal penyembuhan luka, tetapi di sisi lain, jika produksinya berlebihan atau berkepanjangan seperti pada ulkus diabetik, akan menghambat penyembuhan dan memperburuk kerusakan jaringan.³⁵

2.2. *Interleukin 6*

2.2.1. Struktur

Interleukin-6 (IL-6) adalah sitokin pleiotropik yang memiliki peran penting dalam regulasi respon imun, inflamasi, hematopoiesis, metabolisme, dan proses regenerasi jaringan.³⁶ Sitokin ini termasuk dalam keluarga sitokin dengan struktur empat α -heliks dan memiliki berat molekul sekitar 19–28 kDa dengan panjang rantai 184 asam amino.³⁷ Gen IL6 terletak pada kromosom 7p21 dan terdiri dari lima ekson serta empat intron yang mengekspresikan protein aktif melalui translasi mRNA setelah stimulasi inflamasi.³⁶

Struktur IL-6 seperti yang tampak pada Gambar 2.3 terdiri dari domain pengikat reseptor IL-6R α dan gp130, yang keduanya diperlukan untuk memulai transduksi sinyal intraseluler. Kompleks IL-6–IL-6R α berikatan dengan dua molekul gp130 untuk membentuk heksamer aktif yang memicu aktivasi jalur pensinyalan JAK/STAT3, MAPK, dan PI3K/Akt.³⁶ Aktivasi STAT3 selanjutnya menginduksi ekspresi berbagai gen yang berperan dalam fase akut inflamasi, proliferasi sel, dan diferensiasi sel imun.³⁷



Gambar 2.3. Struktur kristal IL-6.²⁴

IL-6 juga dapat melakukan pensinyalan melalui trans-signaling, di mana IL-6 berikatan dengan reseptor larut sIL-6R yang dihasilkan dari shedding oleh enzim ADAM17, kemudian kompleks ini berinteraksi dengan gp130 pada hampir semua tipe sel sehingga memperluas efek biologis IL-6.³⁸ Aktivitas proinflamasi IL-6 sebagian besar dimediasi melalui trans-signaling, sedangkan efek protektif seperti regenerasi hati dan pengaturan metabolisme lebih banyak melalui pensinyalan klasik.^{36,37}

2.2.2. Faktor yang Mempengaruhi Kadar IL-6

Kadar dan ekspresi IL-6 dipengaruhi oleh kombinasi status metabolik, komposisi jaringan adiposa, faktor gaya hidup, serta

gangguan ritme sirkadian. Pada obesitas, hipertrofi adiposit dan infiltrasi makrofag di jaringan lemak menyebabkan peningkatan produksi sitokin proinflamasi, termasuk IL-6, yang menjadi dasar keadaan “*chronic low-grade inflammation*” dan berperan penting dalam terjadinya resistensi insulin dan komplikasi kardiometabolik. Studi menunjukkan bahwa ekspansi *white adipose tissue* menggeser profil adipokin dari dominan anti-inflamasi menjadi pro-inflamasi sehingga kadar IL-6 sirkulasi meningkat seiring naiknya indeks massa tubuh dan lemak viseral.³⁹ IL-6 yang dilepas jaringan lemak viseral juga merangsang hati memproduksi CRP melalui aktivasi STAT3, menjelaskan hubungan erat antara obesitas, IL-6, dan peningkatan CRP pada berbagai penyakit kronis.⁴⁰

Pola makan dan aktivitas fisik merupakan dua faktor gaya hidup utama yang memodulasi IL-6. Diet “*Western*” tinggi kalori, lemak jenuh, gula sederhana, dan pangan ultra-proses dikaitkan dengan intensitas *low-grade inflammation* yang lebih tinggi, sedangkan pola makan kaya sayur, buah, biji-bijian utuh, lemak tak jenuh, dan polifenol seperti diet *Mediterranea*, *vegetarian*, dan *plant-based* cenderung menurunkan biomarker inflamasi termasuk.⁴¹ Meta-analisis dan systematic review menunjukkan bahwa kepatuhan tinggi terhadap diet *Mediterranea* secara bermakna menurunkan IL-6 pada berbagai populasi dewasa dan lansia, baik sehat dengan risiko kardiometabolik maupun dengan penyakit kronik.^{42,43}

Latihan fisik teratur seperti aerobik, resistensi, maupun latihan multimodal secara konsisten menurunkan IL-6 basal jangka panjang meskipun secara akut IL-6 dapat meningkat sebagai myokine yang justru berperan anti-inflamasi. Meta-analisis latihan jangka panjang menunjukkan penurunan IL-6 yang bermakna pada berbagai kelompok, terutama pada individu dengan BMI >25 kg/m² dan latihan minimal 2–3 kali per minggu.⁴⁴

Kualitas tidur dan gangguan ritme sirkadian juga memengaruhi IL-6. Studi pada pekerja shift dan kajian populasi menunjukkan bahwa durasi tidur pendek, insomnia, serta kerja malam kronik berhubungan dengan peningkatan IL-6 dan biomarker inflamasi lain, yang diperkirakan menjadi salah satu mekanisme penghubung antara shift work dengan peningkatan risiko penyakit kardiometabolik.⁴⁵

2.2.3. IL-6 pada Kondisi Diabetes

Kadar IL-6 meningkat signifikan pada penderita Diabetes Melitus Tipe 2 (DMT2) dan memiliki hubungan erat dengan inflamasi kronik derajat rendah yang menjadi ciri khas penyakit ini.⁴⁶ Hiperglikemia memicu aktivasi NF-κB dan AP-1 di berbagai sel seperti monosit, sel endotel, dan hepatosit, sehingga meningkatkan transkripsi gen IL-6 dan sitokin proinflamasi lain.⁴⁷

Studi klinis pada 80 pasien DMT2 menunjukkan bahwa kelompok dengan nefropati diabetik memiliki kadar IL-6 plasma hampir dua kali lipat lebih tinggi dibandingkan kelompok tanpa

nefropati.⁴⁶ Data dari Indonesia juga memperlihatkan bahwa pasien DMT2 dengan kontrol glikemik buruk ($HbA1c \geq 7\%$) memiliki kadar IL-6 yang jauh lebih tinggi dibandingkan pasien dengan kontrol baik.⁴⁸

IL-6 juga berperan dalam resistensi insulin melalui induksi protein supresor sinyal seperti SOCS3 yang menghambat fosforilasi reseptor insulin, sehingga mengganggu transduksi sinyal insulin di jaringan perifer.⁴⁷ Mekanisme ini menjelaskan hubungan antara inflamasi kronik, resistensi insulin, dan komplikasi vaskular pada DMT2.⁴⁶

2.2.4. Peran IL-6 pada Proses Penyembuhan Luka Diabetik

IL-6 memiliki peran ganda dalam penyembuhan luka. Pada fase inflamasi awal, IL-6 berfungsi untuk merekrut neutrofil dan makrofag ke area luka, merangsang produksi protein fase akut di hati, dan meningkatkan angiogenesis serta deposisi kolagen.⁴⁷ Aktivasi jalur JAK/STAT3 oleh IL-6 juga memediasi proliferasi keratinosit dan fibroblas yang esensial untuk pembentukan jaringan granulasi.³⁶

Kadar IL-6 pada luka diabetik yang tinggi dan persisten mempertahankan keadaan inflamasi kronis sehingga menghambat transisi ke fase proliferasi dan remodeling.⁴⁶ Studi pada model tikus diabetes yang diinduksi *streptozotocin* menunjukkan bahwa ekspresi IL-6 yang berlebihan berkorelasi dengan keterlambatan penutupan luka hingga 4–5 hari dibandingkan tikus normal.⁴⁷

Penelitian intervensi pada pasien ulkus diabetik melaporkan bahwa terapi topikal yang efektif dapat menurunkan kadar IL-6 jaringan dan serum seiring dengan perbaikan luas luka dan peningkatan kecepatan epitelisasi⁴⁸. Hal ini menunjukkan bahwa IL-6 bukan hanya penanda inflamasi, tetapi juga indikator keberhasilan terapi pada luka diabetik.⁴⁶

2.3. Pegagan

2.3.1. Kandungan Bioaktif

Pegagan yang diilustrasikan pada gambar 2.4 merupakan tanaman herba tahunan yang tumbuh di daerah tropis dan berbunga sepanjang tahun. Pegagan berbentuk herba tahunan yang aromatik. Batangnya sangat pendek dari batang tumbuh geragih atau stolon yang melata di permukaan tanah dengan panjang 10-15 cm. Daun tunggal, tersusun dalam bentuk roset yang terdiri dari 2-10 lembar daun, kadang-kadang agak berambut (Gambar 2.4). Tangkai daun panjangnya sampai 40 cm, selain daun berbentuk ginjal, lebar dan bundar dengan garis tengah sampai 10 cm, pinggir daun beringgit dan bergerigi. Pangkal dari tangkai daun melekok ke dalam dan melebar seperti pelepah. Tulang daun menjari dan akar bercabang. Bunga berbentuk payung tunggal, biasanya tersusun dari 3 bunga. Tangkai bunga panjangnya 5-50 mm, lebih pendek dari tangkai daun. Daun pelindung berjumlah 2 dan panjangnya 3-4 mm berbentuk telur.⁴⁹



Gambar 2.4. Tanaman Pegagan (*Centella asiatica*).⁴⁹

Pegagan adalah tanaman obat dengan sejarah panjang dalam pengobatan tradisional di berbagai negara, terutama di India, Tiongkok, dan Asia Tenggara.⁵⁰⁻⁵² Tanaman tahunan ini telah lama digunakan dalam terapi untuk berbagai kondisi kesehatan, mencerminkan fleksibilitasnya dalam penyembuhan tradisional.^{53,54}

Pegagan memiliki peran penting dalam pengobatan tradisional untuk berbagai masalah kesehatan, termasuk perawatan kulit, mempercepat penyembuhan luka, meremajakan sistem saraf, dan sebagai tonik otak.^{50,51}

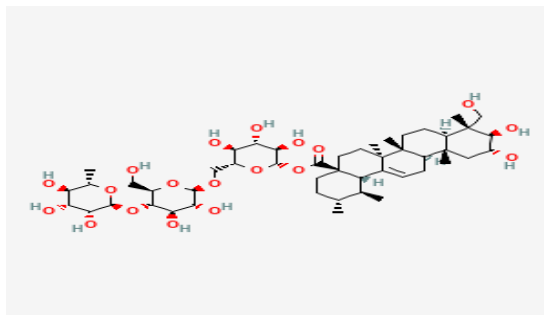
2.3.2. Senyawa Aktif

Komposisi kimia dan senyawa bioaktif pegagan telah dipelajari secara ekstensif, mengungkapkan profil kompleks konstituen aktif farmakologis. Komponen bioaktif utama adalah glikosida triterpenoid pentasiklik, terutama *asiaticoside* dan *madecassoside*, bersama dengan aglikonnya, asam asiatik dan asam madecassik.^{51,52,55} Senyawa ini menunjukkan berbagai sifat farmakologis, termasuk

aktivitas neuroprotektif, penyembuhan luka, anti-inflamasi, anti-oksidan, antitumor, dan *imunomodulator*.^{52,56}

Asiaticoside dan *madecassoside* sangat terkenal karena perannya dalam mengobati gangguan kulit seperti luka bakar, bisul, asma, lupus, psoriasis, dan skleroderma.^{52,57} Baik bagian udara maupun akar tanaman telah menunjukkan berbagai aktivitas farmakologis, termasuk efek antimikroba, anti-inflamasi, dan neuroprotektif.^{50,51,54} Komponen bioaktif ini bekerja melalui berbagai mekanisme, terutama dengan mengurangi peradangan melalui penghambatan sitokin dan enzim pro-inflamasi, sehingga memodulasi respons kekebalan dan melindungi jaringan dari kerusakan.

Asiaticoside merupakan molekul bioaktif yang memiliki struktur kimia kompleks ditunjukkan pada Gambar 2.5 dengan peran penting dalam pencegahan *photoaging*. Struktur ini terdiri dari dua bagian utama yang masing-masing memiliki fungsi spesifik dalam aktivitas biologisnya. Bagian pertama adalah inti triterpene yang terletak di sisi kanan molekul, ditandai dengan struktur cincin siklik yang memberikan stabilitas molekuler.^{58,59}



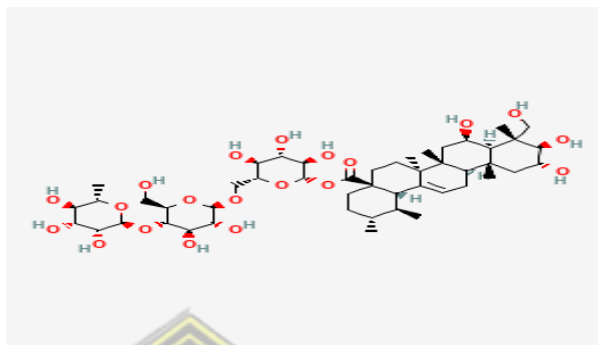
Gambar 2.5. Struktur Kimia *Asiaticoside*.^{58,59}

Bagian kedua dari struktur *asiaticoside* adalah gugus glikosida yang terletak di sisi kiri molekul. Bagian ini terdiri dari struktur trisakarida yang meningkatkan kelarutan molekul dalam air. Peningkatan kelarutan ini berkontribusi pada bioavailabilitas yang lebih baik dan memfasilitasi penyerapan seluler. Selain itu, struktur glikosida juga membantu dalam penargetan reseptor seluler spesifik, meningkatkan efektivitas molekul dalam sistem biologis.^{58,59}

Interaksi kimia *asiaticoside* dalam pencegahan *photoaging* melibatkan beberapa mekanisme molekuler. Gugus OH dalam struktur dapat mendonasikan proton (H^+) untuk menetralkan ROS. Selama proses ini, molekul sementara bertindak sebagai donor elektron. Struktur cincin terkonjugasi dalam *asiaticoside* memungkinkan delokalisasi elektron, memberikan stabilitas setelah donasi elektron. Keunikan struktur ini memungkinkan molekul untuk sering kembali ke keadaan asalnya melalui siklus redoks.^{52,60}

Struktur *Madecassoside* yang tampak pada Gambar 2.6 memiliki struktur yang mirip dengan *asiaticoside*, namun dengan beberapa perbedaan penting yang mempengaruhi fungsinya dalam pencegahan *photoaging*. Struktur *madecassoside* terdiri dari bagian aglycon (inti triterpene) dan bagian glikosida yang membentuk kompleks bioaktif yang unik. Bagian aglycon, yang terletak di sisi kanan molekul, mengandung sistem cincin pentasiklik dengan gugus

hidroksil tambahan yang meningkatkan kapasitas antioksidannya dibandingkan dengan asiaticoside.^{52,59}



Gambar 2.6. Struktur Kimia Madecassoside.^{52,59}

Bagian triterpene dari madecassoside memiliki karakteristik struktural yang mendukung aktivitas biologisnya. Sistem cincin yang kompleks ini memberikan stabilitas molekuler dan mengandung beberapa gugus hidroksil strategis yang berperan dalam aktivitas antioksidan. Gugus OH ini dapat berpartisipasi dalam reaksi redoks dengan cara mendonorkan atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas yang dihasilkan selama paparan UV.^{52,61} Posisi spesifik gugus hidroksil dalam struktur madecassoside memungkinkan aktivitas penangkapan radikal bebas yang lebih efisien.

Glikosida (sisi kiri molekul), madecassoside memiliki rantai oligosakarida yang terdiri dari residu glukosa. Struktur glikosida ini berperan penting dalam meningkatkan kelarutan molekul dalam air dan memfasilitasi penyerapan seluler. Bagian sakarida ini juga berkontribusi pada kemampuan molekul untuk berinteraksi dengan

reseptor membran sel dan protein target, termasuk faktor-faktor yang terlibat dalam regulasi SIRT1 dan MMP-1.⁵⁹

Sistem cincin terkonjugasi dalam struktur *madecassoside* mendukung stabilisasi elektron setelah proses donasi, memungkinkan molekul untuk mempertahankan aktivitas antioksidannya⁶¹. Struktur unik *madecassoside* memungkinkan interaksi dengan protein regulator seperti NF- κ B dan AP-1, yang pada gilirannya mempengaruhi ekspresi MMP-1 dan aktivitas SIRT1.⁵²

2.3.3. Gel Pegagan

Gel Pegagan merupakan bentuk sediaan topikal berbasis air yang diformulasikan untuk meningkatkan efektivitas dan kenyamanan penggunaan ekstrak daun Pegagan dalam terapi luka. Pembuatan gel ini umumnya melibatkan proses pelarutan ekstrak dalam pelarut etanol atau air suling, kemudian dicampurkan dengan bahan pembentuk gel seperti *Carbopol 940*, *hydroxypropyl methylcellulose* (HPMC), atau natrium alginat, hingga terbentuk konsistensi semi-padat yang homogen. Proses netralisasi pH dilakukan dengan trietanolamin (TEA) untuk menyesuaikan dengan rentang pH fisiologis kulit (5,0–6,5), sehingga aman untuk diaplikasikan pada area luka terbuka.⁶² Dalam beberapa formulasi modern, gel pegagan juga dapat dikombinasikan dengan agen humektan seperti gliserol atau propilen glikol untuk mempertahankan kelembapan dan mencegah kekeringan jaringan luka. Keunggulan utama bentuk gel

dibandingkan krim atau salep ialah sifatnya yang non-berminyak, cepat menyerap, memberikan sensasi sejuk, serta dapat meningkatkan penetrasi zat aktif ke lapisan epidermis dan dermis tanpa menutup pori atau menghambat pertukaran udara di area luka. Sifat hidrofiliknya juga memungkinkan lingkungan luka tetap lembap, yang penting untuk migrasi sel epitel dan pembentukan jaringan granulasi baru.^{22,62,63}

Secara farmakologis, gel pegagan berperan penting dalam mempercepat penyembuhan luka pada pasien diabetes melalui mekanisme antiinflamasi, antioksidan, dan stimulasi regenerasi jaringan. Komponen bioaktif seperti *asiaticoside*, *madecassoside*, dan *asiatic acid* terbukti menekan ekspresi sitokin proinflamasi seperti $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, dan IL-6 , yang biasanya meningkat pada fase inflamasi luka diabetik. Selain itu, triterpenoid dalam pegagan mampu menstimulasi aktivitas fibroblas dan meningkatkan sintesis kolagen tipe I dan III, memperkuat struktur jaringan ikat serta mempercepat proses epitelisasi. Studi *in vivo* juga menunjukkan peningkatan ekspresi faktor pertumbuhan seperti VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) dan FGF (*Fibroblast Growth Factor*), yang berperan dalam pembentukan pembuluh darah baru dan peningkatan suplai oksigen pada jaringan luka. Efek antioksidan dari flavonoid dan polifenol pegagan di sisi lain membantu menurunkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan menghambat peroksidasi lipid,

yang sering kali berlebihan pada kondisi hiperglikemik. Dengan menurunkan stres oksidatif dan memperpendek fase inflamasi kronik, gel pegagan memungkinkan fase prolifерatif dan remodeling berlangsung lebih cepat dan efisien. Kombinasi antara kestabilan fisik sediaan, profil keamanan yang baik, dan aktivitas biologis yang luas menjadikan gel pegagan sebagai salah satu formulasi topikal yang paling menjanjikan untuk mendukung penyembuhan luka pada pasien dengan diabetes melitus.^{22,63-65}

2.4. Ikan gabus

Ikan gabus/*Channa striata* atau yang lebih dikenali sebagai *striped snakehead*, anggota genus *Channa*, merupakan ikan konsumsi yang populer di Asia.⁶⁶ Ikan gabus merupakan salah satu bahan pangan sumber albumin yang potensial. Aplikasi ekstrak ikan gabus dalam diet secara nyata dapat meningkatkan kadar albumin serum pada kasus-kasus hipoalbuminemia dan mempercepat proses penyembuhan luka. Dari aplikasi tersebut diduga ekstrak ikan gabus mengandung komponen gizi yang terkait dengan proses sintesis jaringan dan antioksidan, sehingga memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai stabilisator albumin, SGOT dan SGPT.⁶⁷

Kandungan protein pada ikan gabus adalah 13,9%. Asam amino non esensial penting pada ikan gabus seperti asam glutamate (14,253%), arginin (8,675%), dan asam aspartat (9,571%) relatif tinggi. Ketiga asam amino non esensial tersebut sangat penting dalam membantu penyembuhan luka.⁶⁸

Ikan gabus mempunyai manfaat terutama untuk dapat mempercepat penyembuhan luka serta mampu menaikkan kadar albumin. Kadar albumin yang rendah terutama pada keadaan malnutrisi, kelaparan, dan keadaan patologi pada pencernaan sehubungan dengan penyerapan protein.⁶⁶ Ekstrak ikan gabus tinggi albumin mempunyai kandungan albumin hampir 63%, Albumin mengikat berbagai jenis molekul dan dinamakan "spons" atau *"tramp steamer"* di sirkulasi karena kemampuannya untuk mengikat ion logam, asam lemak, obat-obatan dan juga hormon.⁶⁹ Sekarang ini setelah banyak dilakukan penelitian terhadap ikan gabus dan sudah banyak ditemukan manfaat lain, selain dapat mempercepat penyembuhan luka. melakukan percobaan pada tikus mengenai manfaat ikan gabus mendapatkan ekstrak mukus ikan gabus memiliki aktivitas antinosisseptik, antiinflamasi, dan antiperetik.⁷⁰

2.4.1. Peran Dalam Proses Penyembuhan Luka

Ikan gabus kaya akan asam lemak esensial yaitu omega 6 dan omega 3. Omega 6 khususnya asam arakidonat merupakan asam lemak proinflamasi. Kandungan asam arakidonat pada ikan gabus nampaknya berhubungan dengan potensi ikan gabus dalam mempercepat penyembuhan luka. Asam arakidonat merupakan prekursor prostaglandin yang dapat menginduksi agregasi platelet dan adhesi platelet pada jaringan endotel yang mengawali reaksi pembekuan darah pada luka sehingga dapat membantu mempercepat penyembuhan luka.⁷¹

Omega 3 merupakan asam lemak yang bersifat anti inflamasi terutama bila dikonsumsi dalam kadar yang tinggi yaitu $> 10\%$ dari total lemak dibandingkan dengan omega 6, namun sebaliknya bila dikonsumsi dalam kadar yang rendah $< 10\%$ dari total lemak, omega 3 tidak bersifat immunosupresif bahkan dapat meningkatkan respon imun diantaranya proliferasi limfosit, aktivitas sel *natural killer* (NK), aktivasi makrofag, IL-1, IL-2, TNF- α dan reaksi hipersensitivitas tipe lambat.⁷⁰

Kurang lebih 17 asam amino yang telah berhasil diidentifikasi pada ikan gabus. Asam-asam amino utama yang diidentifikasi adalah asam glutamat, glisin, leusin, asam aspartat, prolin, alanine dan arginine. Asam-asam amino yang ada pada ikan gabus ini terbanyak merupakan asam-asam amino yang diperlukan dalam meregulasi pembentukan sistem imun.⁶⁹

Ikan gabus mempunyai kandungan *glisin* yang merupakan komponen penting dalam sintesis kolagen dan secara sinergis bersamaan amino lain seperti glutamat (berperan pada fase inflamasi dan proliferasi), *arginine* (modulasi fungsi imun dan fungsi endotel), isoleusin, fenilalanin, prolin, alanin, dan serin dapat membentuk polipeptida yang mendorong perbaikan jaringan dan proses penyembuhan luka. Ekstrak ikan gabus mengandung arginin dan glutamat yang cukup banyak. Glutamin disintesis dari glutamat melalui glutamine sintetase adalah prekursor glutathione, sebuah

tripeptide terdiri dari glutamat, glisin, dan sistein, dengan kapasitas antioksidan intraseluler. Glutamin diyakini merupakan sumber energi bagi sel yang mengalami replikasi cepat seperti eritrosit dan limfosit juga memperbaiki fungsi GALT (*gastrointestinal associated lymphoid tissue*) dengan cara meredam beberapa jalur peradangan seperti NF-kB, kinase protein, penghambatan ekspresi peningkatan iNOS serta bertindak sebagai regulator negatif penting untuk rangsangan inflamasi, penghambatan fosforilasi dan degradasi I κ B α sebuah penghambatan protein yang terikat pada NF-kB, menghindari translasi ke nukleus. Arginin merupakan prekursor poliamin untuk sintesis kolagen dalam penyembuhan luka dan juga akan merangsang pengeluaran hormon anabolik. Peranan arginin terhadap sistem imunitas tubuh terutama diperantarai oleh pembentukan *nitric oxide*.⁶⁹

Ikan gabus selain dikenal sebagai sumber asam amino dan asam lemak yang cukup lengkap, juga mengandung beberapa vitamin dan mineral diantaranya vitamin A, B, D dan E dan mineral yaitu zinc, magnesium, kalsium dan fosfor. Vitamin dan mineral yang terkandung pada ikan gabus ini juga berperan dalam proses penyembuhan luka, terutama komponen zinc (Zn). Zn berfungsi sebagai antioksidan yang melindungi sel-sel, mempercepat proses penyembuhan luka, mengatur ekspresi dalam limfosit dan protein, memperbaiki nafsu makan dan stabilisasi berat badan.⁷²

2.4.2. Oral ikan gabus

Ekstrak oral ikan gabus dipilih karena telah banyak penelitian menunjukkan terjaganya kandungan nutrisi ikan gabus dalam sediaan ekstrak oral yang kaya akan albumin, asam amino esensial, dan asam lemak tak jenuh (terutama omega-6) yang berperan dalam proses penyembuhan luka. Penelitian oleh Syed Hassan *et al.* (2020) menunjukkan bahwa pemberian oral ikan gabus pada tikus malnutrisi yang menjalani laparotomi meningkatkan tensile strength luka, jumlah fibroblas, dan kadar hidroksiprolin, yang menandakan peningkatan sintesis kolagen dan maturasi jaringan penyembuhan. Efek tersebut diyakini berasal dari kemampuannya dalam merangsang fibroplasia, mempercepat epitelisasi, serta meningkatkan sintesis protein struktural jaringan.⁷

Studi lain oleh Apriasari dan Puspitasari (2018) menunjukkan bahwa genus *Channa*, termasuk *C. striata* dan *C. micropeltes*, mampu mempercepat penyembuhan luka pada model diabetes melalui peningkatan jumlah limfosit dan fibroblas serta penurunan stres oksidatif, berkat kandungan albumin, zinc, dan omega-6 yang mendukung aktivitas antioksidan dan antiinflamasi. Dalam konteks pasien diabetes, pemberian oral ikan gabus berpotensi memperbaiki fase inflamasi yang berkepanjangan, memperkuat proses proliferasi jaringan, dan meningkatkan kualitas penyembuhan luka melalui stimulasi angiogenesis dan pembentukan kolagen baru.⁷³

2.5. Diabetes Mellitus

2.5.1. Definisi

Diabetes melitus merupakan penyakit yang diakibatkan karena tubuh tidak bisa memproduksi insulin atau tubuh tidak bisa menggunakan insulin yang telah diproduksi (resistensi insulin). Insulin merupakan suatu hormon yang diproduksi oleh pankreas yang sangat berperan dalam pengolahan glukosa dari aliran darah ke sel-sel untuk digunakan sebagai energi.⁷⁴

Diabetes Melitus merupakan suatu penyakit metabolik dengan berbagai etiologi, memiliki karakteristik hiperglikemiakronik dan gangguan metabolisme dari karbohidrat, lemak, protein sebagai hasil dari ketidakfungsian insulin (resistensi insulin), menurunnya fungsi Pankreas maupun keduanya.⁷⁵

2.5.2. Klasifikasi

Diabetes melitus memiliki 4 tipe berdasarkan klasifikasi etiologi yang dapat dilihat pada tabel 2.1 berikut:⁷⁴

Tabel 2.1. Klasifikasi Etiologi Diabetes Mellitus

Klasifikasi	Deskripsi
Tipe 1	Disebabkan kerusakan sel beta pankreas sehingga terjadi defisiensi insulin absolut
Tipe 2	Resistensi insulin dan gangguan sekresi insulin relatif
Diabetes Gestasional	Hiperglikemia yang pertama kali terdeteksi saat kehamilan
Tipe spesifik yang berkaitan dengan penyebab lain	Diabetes sekunder akibat penyebab lain (genetik, obat-obatan, penyakit pankreas, dll.)

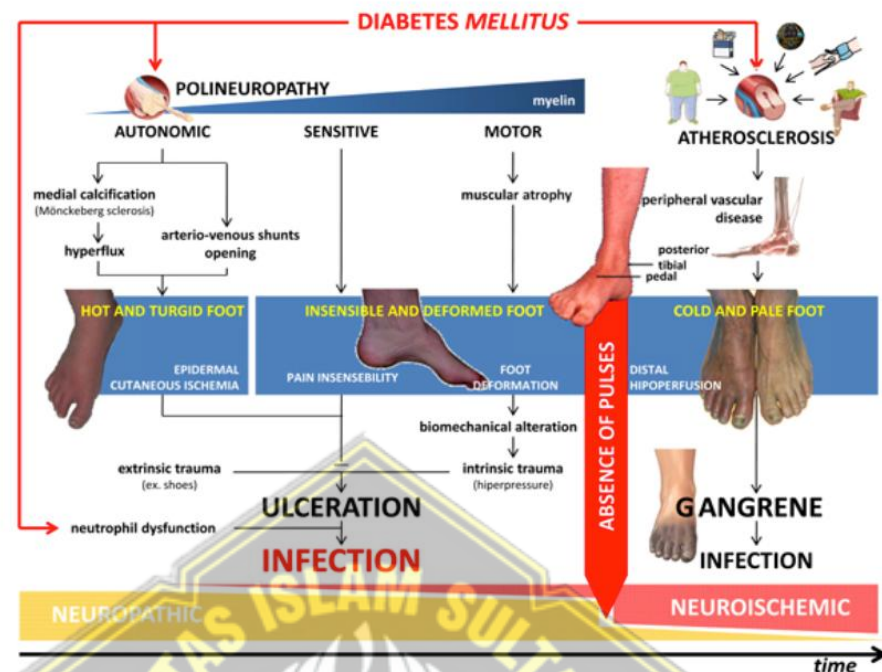
2.5.3. Patofisiologi DM

Infeksi awal akibat kerusakan sawar pertahanan kulit, umumnya di daerah trauma atau ulserasi. Neuropati perifer baik sensorik, motorik, maupun otonom merupakan faktor utama terjadinya kerusakan kulit. Luka terbuka ini selanjutnya menjadi daerah kolonisasi bakteri (umumnya flora normal) dan selanjutnya berkembang menjadi invasi dan infeksi bakteri. Iskemia jaringan kaki berkaitan dengan penyakit arteri perifer umum ditemukan pada penderita infeksi kaki diabetik.⁷⁶ Iskemia pada ekstremitas akan meningkatkan risiko luka menjadi terinfeksi dan akan berkaitan dengan luaran akibat infeksi. Luka pada kaki penderita diabetik sering menjadi luka kronik, berkaitan dengan *advanced glycation end products*(AGEs), inflamasi persisten, dan apoptosis yang diinduksi oleh keadaan hiperglikemi. Mayoritas kasus infeksi kaki diabetik terbatas pada bagian yang relatif superfisial.⁷⁶

Infeksi dapat menyebar ke jaringan subkutan termasuk fascia, tendon, otot, sendi, dan tulang. Anatomi kaki terbagi menjadi beberapa kompartemen yang rigid namun saling berhubungan, sehingga infeksi mudah menyebar antar kompartemen. Respons inflamasi akan meningkatkan tekanan kompartemen melebihi tekanan kapiler, menyebabkan nekrosis jaringan akibat iskemia. Tendon yang terdapat dalam kompartemen menjadi perantara penyebaran infeksi ke proksimal yang umumnya bergerak dari area bertekanan tinggi menuju ke tekanan rendah. Tanda dan gejala sistemik (seperti demam,

menggigil) yang menandakan leukositosis atau gangguan metabolik signifikan jarang ditemukan; adanya tanda sistemik berkaitan dengan keadaan infeksi berat yang berpotensi membahayakan keselamatan ekstremitas dan nyawa.⁷⁷

Mekanisme terbentuknya ulkus kaki diabetik ditunjukkan pada Gambar 2.7, terjadi utamanya akibat kombinasi neuropati dan iskemia. Neuropati sensorik menyebabkan hilangnya rasa nyeri, neuropati motorik menimbulkan deformitas kaki, sedangkan neuropati otonom mengubah aliran darah kulit. Kondisi ini memicu trauma berulang yang berujung pada ulkus dan infeksi. Di sisi lain, aterosklerosis akibat diabetes menyebabkan penurunan aliran darah perifer hingga timbul kaki pucat dan dingin (iskemik). Bila aliran darah sangat berkurang, terjadi gangren dan infeksi berat. Gambar ini menekankan bahwa ulkus diabetik dapat bersifat neuropatik atau neuroiskemik tergantung dominasi gangguan saraf atau vaskular.⁷⁸



Gambar 2.7. Patofisiologi infeksi kaki diabetik berkaitan dengan berbagai faktor risiko.⁷⁸

2.6. Luka pada Diabetes

2.6.1. Definisi Luka pada Diabetes

Menurut *Podiatric Medical Board of California*, Luka pada diabetes merupakan luka atau luka terbuka yang terjadi pada sekitar 15% pasien DM dan umumnya terletak di bagian bawah kaki.⁷⁶ Menurut Schaper *et al* (2020)., *Diabetic Foot Ulcer* adalah infeksi, ulserasi dan atau kerusakan jaringan dalam yang berhubungan dengan kelainan neurologis dan berbagai tingkat penyakit pembuluh darah perifer pada ekstremitas bawah.⁷⁹

Luka kaki pada pasien diabetes terjadi sebagai komplikasi DM akibat neuropati yang menyebabkan hilangnya sensasi nyeri di kaki. Kondisi tersebut membuat penderita hanya merasakan sedikit atau

bahkan tidak merasakan nyeri ketika mengalami trauma, sehingga luka pada kaki sering tidak disadari.⁷⁹ Data epidemiologi global menunjukkan bahwa dari 537 juta orang di dunia yang menderita DM, sekitar 19–34% di antaranya akan mengembangkan Diabetic Foot Ulcer sepanjang hidup mereka. Selain itu, diperkirakan 20% penderita *Diabetic Foot Ulcer* memerlukan amputasi ekstremitas bawah, baik minor (di bawah pergelangan kaki) maupun mayor (di atas pergelangan kaki), sementara 10% lainnya akan meninggal dalam waktu 1 tahun setelah diagnosis.⁸⁰

2.6.2. Mekanisme Gangguan Penyembuhan Luka pada Diabetes

Etiologi *diabetic foot ulcer* sangat beragam dan tidak memiliki faktor risiko tunggal, beberapa komponen penyebab ditambahkan bersama-sama menciptakan penyebab yang cukup untuk ulkus. Neuropati perifer (hilangnya sensasi) sering terjadi, 20% pada saat diagnosis dan sekitar 8-12 tahun setelah berkembang menjadi DM tipe 2, dan merupakan faktor permisif dalam perkembangan ulkus.⁷⁷

Proses terjadinya luka pada pasien diabetes diawali oleh angiopati, neuropati, dan infeksi. Neuropati akan menimbulkan gangguan sensorik yang menghilangkan atau menurunkan sensasi nyeri kaki, sehingga ulkus dapat terjadi tanpa disadari.^{79,80} Ulkus berkembang karena kombinasi faktor seperti hilangnya sensasi pada kaki, sirkulasi yang buruk, kelainan bentuk kaki, iritasi (seperti gesekan atau tekanan), dan trauma, serta durasi diabetes.⁸¹

Penderita DM selama bertahun-tahun dapat mengembangkan neuropati, hal ini terjadi karena seiring waktu kadar gula darah yang meningkat akan menyebabkan kerusakan saraf dan menyebabkan berkurangnya atau hilangnya sensasi nyeri di kaki. Kerusakan saraf seringkali dapat terjadi tanpa rasa sakit, dan seseorang bahkan mungkin tidak menyadari masalahnya. Penyakit pembuluh darah dapat memperumit *diabetic foot ulcer*, mengurangi kemampuan tubuh untuk menyembuhkan dan meningkatkan risiko infeksi. Gula darah tinggi dapat mengurangi kemampuan tubuh untuk melawan potensi infeksi dan juga dapat memperlambat penyembuhan.⁸¹

2.6.3. Klasifikasi Luka Diabetik

Klasifikasi luka kaki diabetik seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.8 yang digunakan sebagai rujukan derajat keparahan luka kaki diabetik pasien *diabetes mellitus* ialah melalui klasifikasi Wagner yakni; derajat 0: tinggi risiko luka pada kaki; derajat 1: luka permukaan kaki; derajat 2: penetrasi luka telah menembus jaringan kulit, tendon, otot, dan sendi; derajat 3: penetrasi luka telah mencapai tulang sehingga tulang menjadi osteomyelitis / abses tulang; derajat 4: lokalisasi gangrene; derajat 5: gangrene ekstensif berujung pada amputasi.^{80, 82}

		Grade/Depth "How deep is the wound?"			
		0	1	2	3
Stage/Comorbidities "Is the wound infected, ischemic or both?"	A	Pre- or post ulcerative lesion completely epithelialised	Superficial wound not involving tendon, capsule or bone	Wound penetrating to tendon or capsule	Wound penetrating to bone or joint
	B	With infection	With infection	With infection	With infection
	C	With ischemia	With ischemia	With ischemia	With ischemia
	D	With infection and ischemia	With infection and ischemia	With infection and ischemia	With infection and ischemia

Gambar 2.8. Klasifikasi luka kaki diabetik *UT score*⁸⁰

Banyak upaya yang telah dilakukan dalam mengkategorikan luka kaki diabetik sesuai ukuran, kedalaman, lokasi, adanya infeksi dan iskemia. Salah satu yang direkomendasikan adalah *The University of Texas (UT) score* untuk klasifikasi luka kaki diabetic⁷⁸. *UT score* telah di validasi dan lebih mudah digunakan untuk menilai derajat luka kaki diabetik dan menentukan manajemen luka yang sesuai.⁸⁰

2.6.4. Faktor-faktor yang Memengaruhi Luka Diabetes

2.6.4.1. Jenis Kelamin

Jenis kelamin adalah suatu faktor yang berperan penting pada beberapa kejadian komplikasi penyakit. Dalam penelitian ini, telah memperhatikan variasi yang signifikan dalam hal tertentu variabel seperti jenis kelamin, spektrum infeksi mikroba, lokasi dan tingkat keparahan luka.⁸³ Perempuan kalah jumlah laki-laki dengan faktor rasio 2,5 : 1.

Rasio gender yang serupa dilaporkan oleh Al Benwan *et. al.* dalam sebuah penelitian yang dilakukan di Kuwait dan oleh Jain *et al.* di Gujarat, Dominasi laki-laki pada komplikasi luka kaki diabetik dapat dikaitkan dengan faktor-faktor seperti perbedaan terkait gender dalam gaya hidup dan peran yang profesional yang mengharuskan laki-laki untuk menoleransi lebih banyak tekanan. Peningkatan tingkat pekerjaan dan kepatuhan yang rendah terhadap praktik perawatan kaki lebih dominan dikalangan wanita dari pria.⁸⁴

2.6.4.2. Usia

Usia seorang pasien harus menjadi perhatian serius. Pada luka kaki diabetik prevalensinya sangat erat pada pasien dewasa tua dengan usia 51 tahun 60 tahun terinfeksi secara signifikan dengan infeksi kaki diabetik.⁸⁴

2.6.4.3. Kadar Glukosa

Terdapat hubungan antara kadar glukosa darah dengan derajat ulkus kaki diabetik dan didapatkan hasilnya pada responden dengan resiko tinggi terjadinya ulkus kaki diabetik yaitu kadar gula darah sewaktu (GDS) 200 mg/dl memiliki derajat ulkus kaki diabetik 2 dan derajat ulkus kaki diabetik. Hal ini menunjukkan bahwa kadar glukosa darah yang tinggi dapat menyebabkan penurunan kemampuan pembuluh darah dalam berkontraksi maupun relaksasi sehingga perfusi

jaringan bagian distal dari tungkai kurang baik dan juga kadar glukosa darah yang tinggi merupakan lingkungan yang 12 subur untuk berkembang biaknya kuman pathogen yang bersifat anaerob karena plasma darah penderita diabetes mellitus yang tidak terkontrol dan memiliki viskositas yang tinggi. Keadaan inilah yang mengembangkan terjadinya ulkus kaki diabetik pada penderita diabetes mellitus yang memiliki kadar glukosa darah yang tinggi.⁸⁴

2.7. Efek Kombinasi Terapi Gel Pegagan dan ikan gabus Oral Terhadap Kadar TNF-Alpha dan IL-6 pada Luka Kondisi Diabetes

Pegagan mengandung triterpenoid saponin terutama *asiaticoside* dan *madecassoside* yang konsisten dilaporkan menstimulasi proliferasi fibroblas, migrasi keratinosit, deposisi kolagen, dan angiogenesis. Mekanisme yang terlibat mencakup peningkatan MCP-1 pada keratinosit, peningkatan IL-1 β pada makrofag, serta induksi VEGF yang mendukung neovaskularisasi dan nutrisi jaringan granulasi.³ Aktivitas pro-perbaikan jaringan ini berjalan paralel dengan penurunan stres oksidatif luka dan vasodilatasi lokal, yang secara tidak langsung meredam aktivasi jalur inflamasi seperti NF- κ B sebagai pusat regulasi transkripsi TNF- α dan IL-6.³ Kajian eksperimental selanjutnya memperlihatkan ekstrak pegagan menurunkan kadar TNF- α pada model inflamasi, menguatkan potensi anti-inflamasi bahan ini sebagai adjuvan pada luka diabetik.¹

Keuntungan bentuk gel/hidrogele yang mempertahankan kelembapan luka dan dapat meningkatkan bioavailabilitas serta penetrasi kulit (termasuk lewat teknologi nano/hidrogele), sehingga delivery senyawa aktif menjadi lebih efektif pada jaringan iskemik-hiperglikemik. Temuan klinis/praklinis mendukung mekanisme tersebut: kajian sistematik dan tinjauan terbaru merangkum penurunan marker inflamasi (TNF- α /IL-6), peningkatan kolagen/angiogenesis, dan performa baik formulasi gel/hidrogele di berbagai tipe luka termasuk luka pada diabetes. Uji hewan pada model diabetes dengan gel etanol pegagan menunjukkan percepatan penyusutan luka yang bermakna, dan studi eksperimental lain memperlihatkan peningkatan tensile strength/epitelisasi pada model insisi/bakar. Selain itu, ekstrak terstandar ECa233 memiliki profil keamanan akut-subkronik yang baik sebagai landasan penggunaan topikal/oral pendukung. Semua ini menjadikan gel pegagan rasional sebagai adjuvan untuk menekan inflamasi kronik, mempercepat transisi ke fase proliferasi, dan meningkatkan kualitas perbaikan jaringan pada pasien diabetes.^{22,62-65}

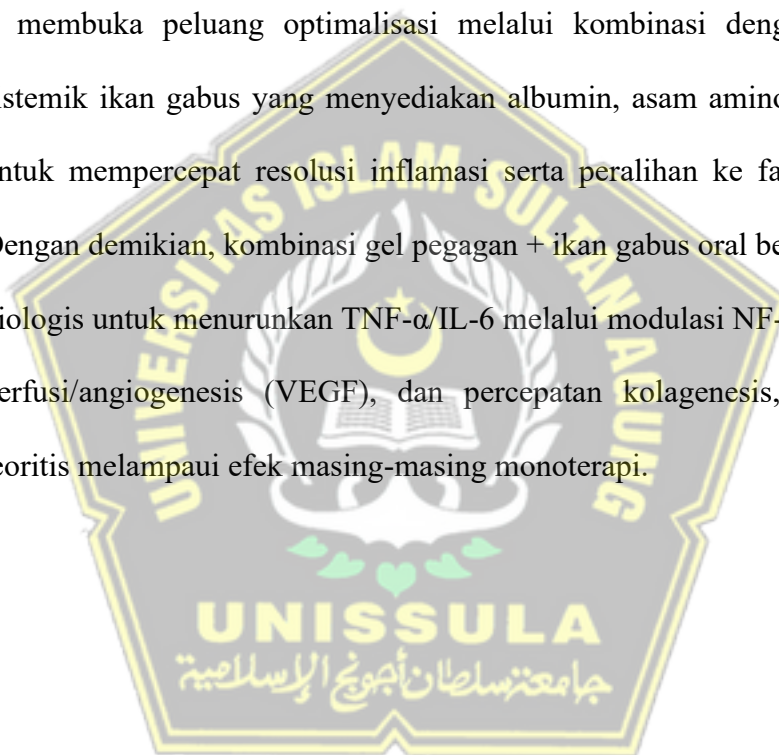
Ekstrak ikan gabus secara sistemik merupakan sumber albumin, asam amino esensial (*histidin, treonin, arginin, metionin, valin, fenilalanin, leusin, isoleusin, lisin*), asam amino dominan seperti leusin dan glutamat, serta mineral (terutama Zn dan Fe) yang semuanya krusial untuk penyembuhan luka diabetik. Kandungan ini menguatkan imunitas, mendukung epitelisasi, serta menyediakan substrat untuk sintesis kolagen dan matriks ekstraseluler yang berimbas pada penurunan stimulus inflamasi yang berkepanjangan.^{4,7}

Beberapa laporan menyebut efek anti-inflamasi *Channa* yang terkait modulasi NF- κ B serta peningkatan ekspresi VEGF, sehingga berpotensi menekan transkripsi TNF- α /IL-6 sekaligus mendorong angiogenesis.⁸⁵ Secara fungsional pada model hewan, genus *Channa* (termasuk *C. micropeltes*) meningkatkan jumlah limfosit dan fibroblas pada luka diabetik, dua indikator kunci peralihan fase inflamasi ke fase proliferasi, yang konsisten dengan penurunan sinyal pro-inflamasi dan pemulihan homeostasis jaringan.⁷³

Secara molekuler, hiperglikemia kronik pada diabetes memicu akumulasi ROS dan aktivasi NF- κ B di berbagai sel (makrofag, keratinosit, endotel), sehingga TNF- α dan IL-6 bertahan tinggi dan menghambat transisi ke fase proliferasi.^{34,86,87} *Asiaticoside/madecassoside* menormalkan keadaan mikro-lingkungan luka dengan: (i)menekan stres oksidatif, (ii)memperbaiki perfusi melalui vasodilatasi/angiogenesis (VEGF), dan (iii)mempercepat penggantian jaringan melalui aktivasi fibroblas dan kolagenesis; keseluruhan efek ini diperkirakan menurunkan kebutuhan “*set-point*” inflamasi dan menekan produksi TNF- α /IL-6.¹⁵ Albumin dan asam amino dari ikan gabus di sisi lain menyokong *synthetic load* untuk kolagen dan ECM, sementara Zn/Fe serta PUFA berperan pada resolusi inflamasi dan pematangan jaringan. Laporan mekanistik juga menunjukkan kontrol NF- κ B dan peningkatan VEGF pada fase proliferasi.⁷³ Dengan menstabilkan hemostasis jaringan dan mempercepat angiogenesis/kolagenesis, kombinasi ini berpotensi menutup

loop feed-forward inflamasi, sehingga kadar TNF- α dan IL-6 diharapkan turun lebih cepat dibanding monoterapi.

Secara klinis-translasional, platform topikal *Centella* telah terbukti aman pada pasien ulkus kaki diabetik meskipun tanpa keunggulan yang bermakna terhadap balutan hidrokoid dalam uji dua minggu.¹³ Bukti praklinis kuat tentang aktivasi fibroblas/kolagen, induksi VEGF, dan penurunan TNF- α membuka peluang optimalisasi melalui kombinasi dengan dukungan sistemik ikan gabus yang menyediakan albumin, asam amino, dan mineral untuk mempercepat resolusi inflamasi serta peralihan ke fase proliferasi. Dengan demikian, kombinasi gel pegagan + ikan gabus oral beralasan secara biologis untuk menurunkan TNF- α /IL-6 melalui modulasi NF- κ B, perbaikan perfusi/angiogenesis (VEGF), dan percepatan kolagenesis, yang secara teoritis melampaui efek masing-masing monoterapi.



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori

Hiperglikemia pada diabetes memicu akumulasi ROS dan aktivasi NF- κ B di berbagai sel (makrofag, keratinosit, endotel), sehingga pada proses penyembuhan luka TNF- α dan IL-6 bertahan tinggi dan menghambat transisi dari fase inflamasi ke fase proliferasi.^{34,86,87}

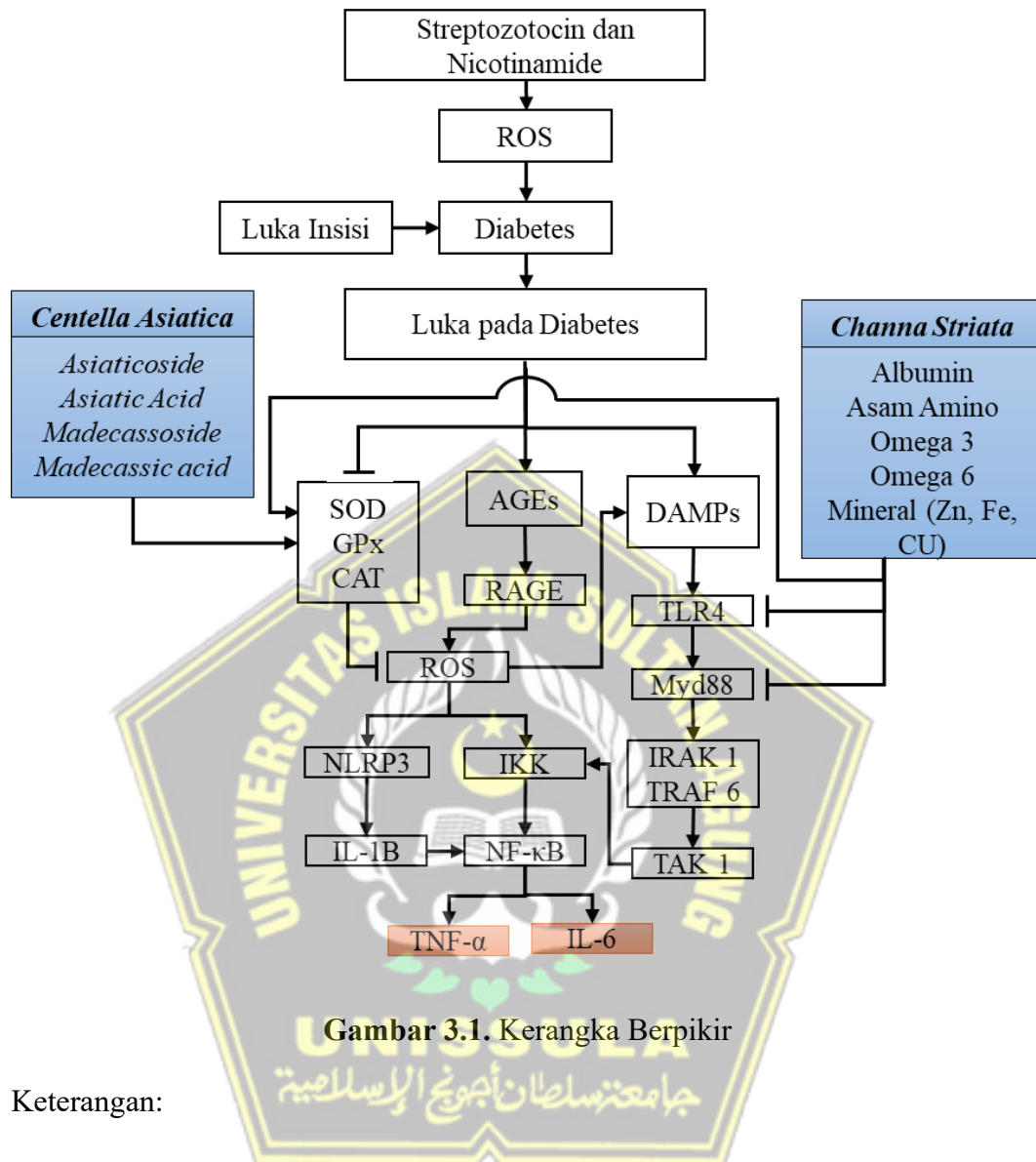
Pemberian gel pegagan yang kaya akan asiaticoside dan madecassoside bekerja secara topikal pada jaringan luka dengan menstimulasi proliferasi fibroblas, migrasi keratinosit, serta angiogenesis melalui peningkatan ekspresi VEGF dan faktor pertumbuhan lain. Mekanisme ini sekaligus menghambat jalur NF- κ B, sehingga menurunkan ekspresi TNF- α dan IL-6 yang berperan besar dalam mempertahankan inflamasi kronis pada luka diabetik.^{13,15}

Pemberian oral ikan gabus yang mengandung albumin, asam lemak omega-6, dan zinc memperbaiki status nutrisi, meningkatkan aktivitas antioksidan endogen seperti SOD dan katalase, serta mendukung pembentukan kolagen dan jaringan granulasi. Efek ini juga bermuara pada penurunan sitokin proinflamasi (TNF- α dan IL-6), sekaligus mempercepat transisi fase inflamasi menuju fase proliferasi dan remodeling penyembuhan luka.^{12,73,85}

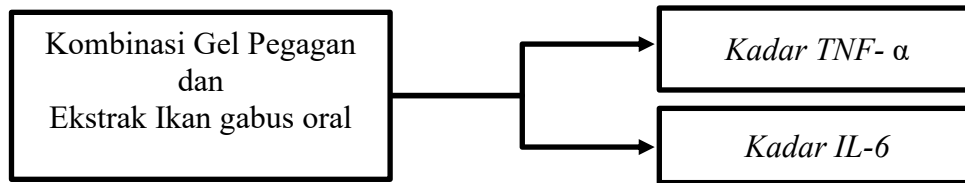
Kombinasi keduanya menciptakan efek sinergis: modulasi inflamasi dan stimulasi regenerasi jaringan yang lebih optimal, menghasilkan

penyembuhan luka lebih cepat dengan kadar TNF- α dan IL-6 yang lebih rendah.





3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

Terdapat pengaruh Kombinasi gel PEGAGAN dan ekstrak oral ikan gabus terhadap kadar TNF- α dan IL-6 pada luka insisi tikus galur Wistar model diabetes.

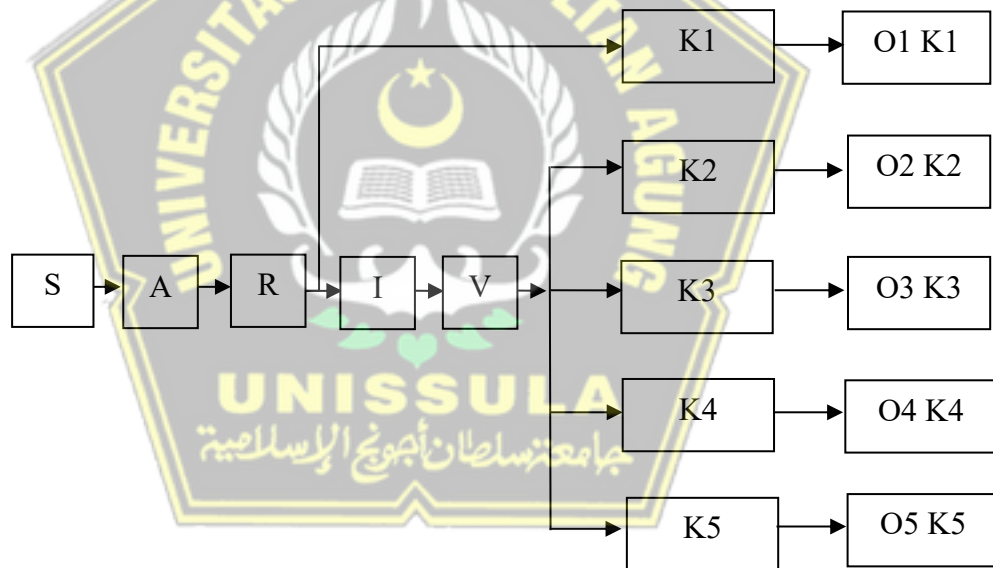


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental in vivo dengan menggunakan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Penelitian ini menggunakan 5 kelompok dengan rincian sebagai berikut: 3 kelompok perlakuan, 1 kelompok perlakuan tidak mendapatkan intervensi (Kontrol) dan 1 kelompok tikus dengan luka tanpa induksi diabetes sebagai baseline. Pengukuran data dilakukan setelah intervensi.



Gambar 4.1. Rancangan Penelitian

Keterangan:

- S** : Sampel Penelitian (Tikus Wistar)
- A** : Adaptasi
- R** : Randomisasi
- I** : Induksi diabetes streptozotocin/Nicotinamide, GDS $\geq 200\text{mg/dL}$
- V** : Validasi

Perlakuan :

- **K1** : Tikus model luka dengan pemberian base gel dan Aquabides Oral.
- **K2** : Tikus model luka diabetes dengan pemberian base gel dan Aquabides Oral.
- **K3** : Tikus model luka diabetes dengan pemberian ikan gabus oral 2mL (dosis 100mg/100g) dan base gel.
- **K4** : Tikus model luka diabetes dengan pemberian krim pegagan 10% dan Aquabides Oral.
- **K5** : Tikus model luka diabetes dengan kombinasi ikan gabus oral 2mL (dosis 100mg/100g BB) + gel pegagan 10%

O : Observasi

4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.2.1. Variabel Penelitian

4.2.1.1. Variabel bebas

Gel pegagan 10% yang di-berikan secara topical dan ekstrak ikan gabus 2mL (dosis 100mg/100g) yang diberikan secara oral

4.2.1.2. Variabel Terikat

Kadar TNF- α pada jaringan luka dan IL-6 pada darah tikus model diabetes.

4.2.1.3. Variabel Prekondisi

Tikus Galur Wistar Luka DM yang diinjeksi STZ-NA.

4.2.2. Definisi Operasional

4.2.2.1. Model luka pada diabetes

Model luka pada diabetes didefinisikan sebagai luka insisi buatan (*artificial incision wound*) sepanjang 2 cm yang dibuat pada punggung (dorsal) tikus Wistar jantan yang telah terkonfirmasi diabetes (kadar glukosa darah sewaktu 200 mg/dL pasca induksi STZ 65 mg/kgBB dan NA 120 mg/kgBB). Pembuatan luka dilakukan di bawah anestesi umum menggunakan *Ketamine-Xylazine*. Insisi dibuat lurus sejajar tulang belakang (*paravertebral*) menggunakan pisau bedah steril no. 11, dengan kedalaman mencapai lapisan subkutan (*full thickness skin incision*) tanpa mencederai otot di bawahnya.

Unit: -

Skala: Nominal

4.2.2.2. Gel Ekstrak Pegagan

Gel Ekstrak pegagan adalah sediaan obat luar berbasis gel yang dibuat menggunakan bahan dasar simplisia pegagan terstandar dari B2P2TOOT Tawangmangu. Proses ekstraksi dan formulasi sediaan gel dilakukan di Laboratorium IBL FK Unissula untuk menghasilkan konsentrasi akhir ekstrak sebesar 10%. Sediaan ini diberikan dengan cara dioleskan

pada luka insisi tikus diabetik dengan frekuensi 1 kali sehari selama kurun waktu 7 hari.

Unit : mg

Skala : Nominal

4.2.2.3. Ekstrak ikan gabus Oral

Ekstrak ikan gabus didefinisikan sebagai ekstrak ikan gabus yang berasal dari sediaan kapsul komersial DRE Ecobumin (No. Reg: POM TR. 253001171, diproduksi oleh CV Bina Syifa Mandiri) dengan data profil kandungan pada lampiran 6. Setiap kapsul mengandung 500 mg ekstrak *Ikan gabus*. Isi kapsul dilarutkan dalam pelarut aquadest dengan konsentrasi 100 mg/mL. Larutan diberikan secara *oral gavage* pada tikus Wistar dengan dosis 100 mg/100 g BB/hari. Volume pemberian disesuaikan dengan berat badan tikus (1 mL larutan per 100 g BB, setara dengan 2 mL untuk tikus berat 200 g), diberikan satu kali sehari selama 7 hari.

Unit : mg/gBB

Skala : Nominal

4.2.2.4. Kadar TNF- α

Kadar TNF- α didefinisikan sebagai konsentrasi sitokin Tumor Necrosis Factor-alpha dalam homogenat jaringan luka hewan coba yang ditetapkan dengan metode sandwich ELISA sesuai petunjuk pabrik kit komersial. Sampel jaringan

diambil dari tepi luka dengan berat 50–100 mg pada hari ke 8 penelitian, kemudian dihomogenisasi menggunakan buffer dingin yang mengandung protease inhibitor, disentrifugasi untuk memperoleh supernatan, dan disimpan pada suhu 20 °C hingga dilakukan analisis. Pembacaan dilakukan pada panjang gelombang 450 nm (koreksi 570/630 nm), kadar ditentukan berdasarkan kurva standar, dan hasil dilaporkan sebagai rata-rata duplo setiap sampel dalam satuan pg/mg protein total.

Unit: pg/mL

Skala: Rasio

4.2.2.5. Kadar IL-6

Kadar IL-6 didefinisikan sebagai konsentrasi sitokin Interleukin-6 dalam serum hewan coba yang ditetapkan dengan metode *sandwich* ELISA menggunakan Rat IL-6 ELISA Kit (*Bioassay Technology Laboratory, Shanghai, China*) sesuai prosedur pabrik. Sampel darah sebanyak 0,5 mL diambil melalui *plexus retro-orbitalis* pada hari ke 8 penelitian, didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang untuk pembekuan, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan serum. Serum kemudian disimpan pada suhu –20 °C hingga analisis dilakukan. Pembacaan densitas optik (*optical density*)

dilakukan pada panjang gelombang 450 nm. Konsentrasi IL-6 dihitung berdasarkan kurva standar dan hasil dilaporkan sebagai rata-rata duplo untuk setiap sampel dalam satuan pg/mL

Unit: pg/mL

Skala: Rasio

4.3. Subjek Penelitian dan Sampel Penelitian

4.3.1. Subjek Penelitian

Subjek pada penelitian ini adalah tikus galur wistar jantan berusia 10 minggu dengan bobot badan 180–200 g yang dinyatakan sehat dan layak digunakan untuk penelitian. Tikus terlebih dahulu diinduksi diabetes menggunakan *streptozotocin* (STZ) dan *Nicotinamide* (NA) untuk menghasilkan model diabetes, kemudian dilakukan pembuatan luka insisi pada daerah dorsalnya. Selanjutnya, tikus diberikan perlakuan berupa aplikasi gel pegagan pada area luka secara topikal dengan konsentrasi 200 µg/cm², serta pemberian ekstrak oral ikan gabus sesuai dosis yang telah ditentukan, guna mengevaluasi pengaruh kombinasi terapi terhadap kadar TNF-α dan IL-6 selama proses penyembuhan luka.

4.3.2. Sampel Penelitian

4.3.2.1. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Tikus Wistar jantan berusia 10 minggu.
2. Berat badan berkisar 180–200 gram.
3. Sehat secara klinis berdasarkan pemeriksaan fisik (aktif, tidak ada luka atau kelainan kulit sebelum perlakuan).

4.3.2.2. Kriteria Eksklusi

Kriteria Eksklusi pada penelitian ini adalah :

1. Tikus pada kelompok perlakuan diabetes yang tidak mengalami peningkatan kadar gula darah (hiperglikemia >200 mg/dL) setelah induksi STZ.

4.3.2.3. Kriteria *Drop out*

Tikus mati selama penelitian.

4.3.3. Cara Penentuan Sampel Penelitian

Untuk menentukan ukuran sampel, penelitian ini menggunakan rumus Federer.

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

Dimana:

t = jumlah kelompok perlakuan (dalam penelitian ini 5 kelompok)

n = jumlah sampel yang dibutuhkan per kelompok 15 adalah konstanta dalam rumus.

Perhitungan:

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

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 5 \text{ dengan pembulatan}$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, dibutuhkan minimal 5 sampel per kelompok. Dengan total 6 kelompok perlakuan, maka jumlah keseluruhan sampel yang dibutuhkan adalah 30 tikus.

4.4. Alat dan Bahan

4.4.1. Alat

Penelitian ini menggunakan beberapa peralatan untuk membuat hewan model antara lain berupa glukometer untuk pemeriksaan kadar glukosa darah, kandang pemeliharaan, wadah pakan dan minum, serta instrumen bedah kecil seperti pisau bedah, pinset, dan gunting bedah steril. Alat yang digunakan untuk pemberian perlakuan adalah oral gavage untuk sediaan ikan gabus dan spatula aplikator untuk pemberian gel pegagan. Alat yang digunakan untuk pengumpulan data meliputi tabung eppendorf 1,5 mL, pot sampel jaringan, serta Elisa Kit untuk pembacaan ELISA kadar TNF- α dan IL-6.

4.4.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan untuk perlakuan seperti ekstrak pegagan basis gel, Ekstrak ikan gabus, ketamin, xylazine, etanol, akuades, pakan tikus.

4.5. Cara Penelitian

4.5.1. Perolehan *Ethical Clearance*

Ethical clearance penelitian diperoleh dari Komisi Bioetik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang (Lampiran 2).

4.5.2. Pembuatan Ekstrak Pegagan

Tanaman pegagan yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari B2P2TOOT Tawangmangu. Kriteria sampel yang dipilih adalah tanaman berumur 3 bulan dengan kondisi daun berwarna hijau segar, serta bebas dari bintil atau jamur. Seluruh proses pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium IBL FK Unissula.

Proses pembuatan ekstrak diawali dengan pengumpulan daun PEGAGAN, kemudian dibersihkan (sortasi basah) dan dikeringkan di tempat yang teduh dengan ventilasi baik atau menggunakan oven pengering pada suhu rendah (40-50°C) hingga kering sempurna (simplicia). Proses pengeringan ini bertujuan untuk mencegah pertumbuhan jamur dan menjaga stabilitas senyawa dalam daun. Simplicia pegagan yang sudah kering kemudian digiling menggunakan *food processor* hingga menjadi serbuk halus, lalu diayak menggunakan saringan halus untuk mendapatkan ukuran partikel yang homogen.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Serbuk pegagan ditempatkan dalam wadah kaca (maserator) dan direndam

menggunakan pelarut etanol 96%. Campuran tersebut diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 24 jam pada suhu kamar atau dipanaskan menggunakan *waterbath* pada suhu 80°C untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi.

Hasil rendaman (maserat) kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan ekstrak cair dari ampas serbuk pegagan. Filtrat yang diperoleh selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40-50°C hingga pelarut menguap dan didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental tersebut dikeringkan lebih lanjut menggunakan *freeze dryer* atau oven pada suhu rendah hingga menghasilkan ekstrak pegagan dalam bentuk serbuk/kering. Ekstrak pegagan yang diperoleh kemudian disimpan dalam wadah kedap udara, terlindung dari cahaya, dan diletakkan di lemari pendingin untuk menjaga stabilitas kualitasnya sebelum diformulasikan menjadi gel.

4.5.3. Pembuatan Gel Pegagan

Larutkan Carbopol kedalam 30ml air, lalu panaskan sampai suhu 70°C, aduk sampai mengembang dan berbentuk gel. Diamkan selama 24 jam untuk mendapatkan karbopol yang larut sempurna, dan ditambah sedikit demi sedikit. Metil paraben dilarutkan dalam propilen glikol dan diaduk sampai homogen, dan campuran ini dimasukkan ke dalam basis gel. Diaduk sampai homogen. Setelah larutan gel base siap, tambahkan ekstrak daun pegagan sebanyak

sesuai konsentrasi variabel ke dalam larutan. Aduk campuran dengan pengaduk magnetik hingga ekstrak terdispersi secara homogen dalam gel base. Pastikan pengadukan dilakukan secara perlahan dan merata untuk menghindari pembentukan gelembung udara. Gel dikemas ke dalam wadah yang bersih dan steril. Simpan gel di tempat yang sejuk dan kering untuk menjaga kualitas dan efektivitasnya.

4.5.4. Pembuatan Ekstrak ikan gabus Oral

Ekstrak ikan gabus yang digunakan dalam penelitian ini merupakan ekstrak terstandarisasi yang diperoleh dari produk komersial DRE Ecobumin (Diproduksi oleh CV Bina Syifa Mandiri, Indonesia; No. Reg: POM TR. 253001171). Penggunaan sediaan terstandar dipilih untuk meminimalisir variasi kandungan bahan aktif antar sampel dan menjamin reproduktibilitas penelitian.

Setiap kapsul DRE Ecobumin mengandung 500 mg ekstrak murni ikan gabus. Untuk persiapan perlakuan pada hewan coba, cangkang kapsul dibuka dan serbuk ekstrak dikeluarkan. Serbuk tersebut kemudian dilarutkan menggunakan pelarut aquadest steril hingga mencapai konsentrasi stok 100 mg/mL. Proses pelarutan dilakukan dengan bantuan *magnetic stirrer* atau *vortex* hingga homogen. Larutan ekstrak ikan gabus dibuat baru setiap hari (*freshly prepared*) sesaat sebelum pemberian perlakuan untuk menjaga stabilitas kandungan protein (albumin) dan mencegah kontaminasi bakteri.

4.5.5. Metode Pembuatan Model Luka pada tikus Diabetes

Model luka pada tikus Diabetes dibuat melalui serangkaian tahapan yang meliputi induksi diabetes dan pembuatan luka insisi pada tikus. Pertama, induksi diabetes dilakukan pada tikus galur Wistar (berat badan 180–200 g) yang telah dipuasakan selama 12 jam (hanya diberi air minum). Induksi dilakukan dengan pemberian dua zat secara intraperitoneal.

Pertama, tikus diinjeksi Nicotinamide (NA) dosis 120 mg/kgBB yang dilarutkan dalam *normal saline* dengan konsentrasi 60 mg/mL (volume injeksi 0,36–0,40 mL/ekor). Lima belas menit kemudian, dilanjutkan dengan injeksi Streptozotocin (STZ) dosis 65 mg/kgBB yang dilarutkan dalam bufer sitrat dingin (pH 4,5) dengan konsentrasi 32,5 mg/mL (volume injeksi 0,36–0,40 mL/ekor). Larutan STZ dibuat segar (*freshly prepared*) dan terlindung dari cahaya sesaat sebelum penyuntikan. Setelah 72 jam pasca-injeksi, kadar glukosa darah diperiksa melalui darah vena ekor. Tikus yang memiliki kadar glukosa darah ≥ 200 mg/dL dikategorikan sebagai model diabetes melitus dan siap untuk tahap percobaan berikutnya.

Pembuatan luka insisi pada hewan coba model diabetes diawali dengan pemberian anestesi menggunakan kombinasi ketamin-xylazine (ketamin 80 mg/kgBB dan xylazine 10 mg/kgBB, intraperitoneal). Daerah punggung tikus dicukur dan disterilisasi dengan povidone iodine. Luka dibuat berbentuk insisi linear

sepanjang ± 2 cm pada daerah punggung tengah menggunakan pisau bedah steril hingga mencapai lapisan subkutan tanpa merusak otot di bawahnya. Luka dibiarkan terbuka (*open incision wound model*) agar proses penyembuhan berlangsung secara alami. Setelah pembuatan luka, perlakuan diberikan sesuai dengan kelompok 4 dan 5 dengan dosis $200 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Pemantauan luka dilakukan secara berkala setiap hari, dengan pengukuran panjang atau area luka menggunakan jangka sorong atau perangkat analisis gambar, hingga hari ke-8 pasca-intervensi untuk mengevaluasi proses penyembuhan.

4.5.6. Metode Pembacaan ELISA untuk TNF- α dan IL-6

a. Persiapan Sampel

Sampel serum untuk pemeriksaan IL-6 diperoleh dari darah hewan coba yang diambil melalui sinus orbita dengan volume $\pm 0,5$ mL. Darah kemudian diproses melalui sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit dengan suhu 4 derajat celsius. Supernatan (serum) yang telah terpisah diambil dan segera disimpan pada suhu minus 20°C hingga siap untuk dianalisis lebih lanjut menggunakan ELISA.

Jaringan dari luka insisi diambil sebagai sampel jaringan untuk pemeriksaan kadar TNF- α . Jaringan dibilas dengan PBS dingin untuk menghilangkan kelebihan darah secara menyeluruh dan ditimbang sebelum dihomogenkan. Cincang jaringan hingga halus dan homogenkan dalam buffer lisis segar dengan

homogenizer kaca di atas es atau menggunakan *Micro Tissue Grinder*. Buffer lisis yang berbeda harus dipilih berdasarkan lokasi subseluler protein target (misalnya, 1 mL buffer lisis ditambahkan ke dalam 200 mg sampel jaringan). Suspensi yang dihasilkan disonikasi dengan cell disrupter ultrasonik hingga larutan menjadi jernih. Kemudian, homogenat disentrifugasi selama 5 menit pada $10.000 \times g$. Kumpulkan supernatan dan uji segera atau sebagian dan simpan pada suhu $\leq -20^\circ \text{C}$ untuk dianalisis lebih lanjut menggunakan ELISA..

b. Prosedur ELISA

Sebelum pengerjaan, semua reagen dan sampel diadaptasi pada suhu ruang selama ± 30 menit. Prosedur dilanjutkan dengan menyiapkan mikrotiter plate yang telah dilapisi dengan antibodi spesifik untuk TNF- α atau IL-6, sesuai petunjuk kit komersial. Sebanyak 50–100 μL sampel serum atau larutan standar dimasukkan ke dalam sumur mikrotiter. Plate diinkubasi selama 2 jam pada suhu ruang (atau sesuai petunjuk kit), diikuti dengan pencucian 3–5 kali menggunakan larutan pencuci (*wash buffer*). Selanjutnya, konjugat enzim (Streptavidin-HRP) ditambahkan ke setiap sumur dan diinkubasi kembali selama 30–60 menit. Setelah pencucian ulang, substrat kromogen TMB (*tetramethylbenzidine*) ditambahkan dan diinkubasi selama ± 15 menit hingga terjadi

perkembangan warna. Reaksi kemudian dihentikan dengan penambahan *stop solution* (Asam Sulfat 2N).

c. Pembacaan Hasil

Hasil reaksi dibaca menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 450 nm, dengan koreksi pada panjang gelombang 570/630 nm. Nilai *Optical Density* (OD) yang diperoleh diplot terhadap kurva standar untuk menentukan konsentrasi absolut TNF- α dan IL-6, yang umumnya dinyatakan dalam satuan pg/mL. Untuk memastikan akurasi dan mengurangi kesalahan teknis, semua sampel dianalisis dalam bentuk duplo (*duplicate*).

4.6. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium IBL FK Unissula. Penelitian dilakukan pada November 2025 - Januari 2026.

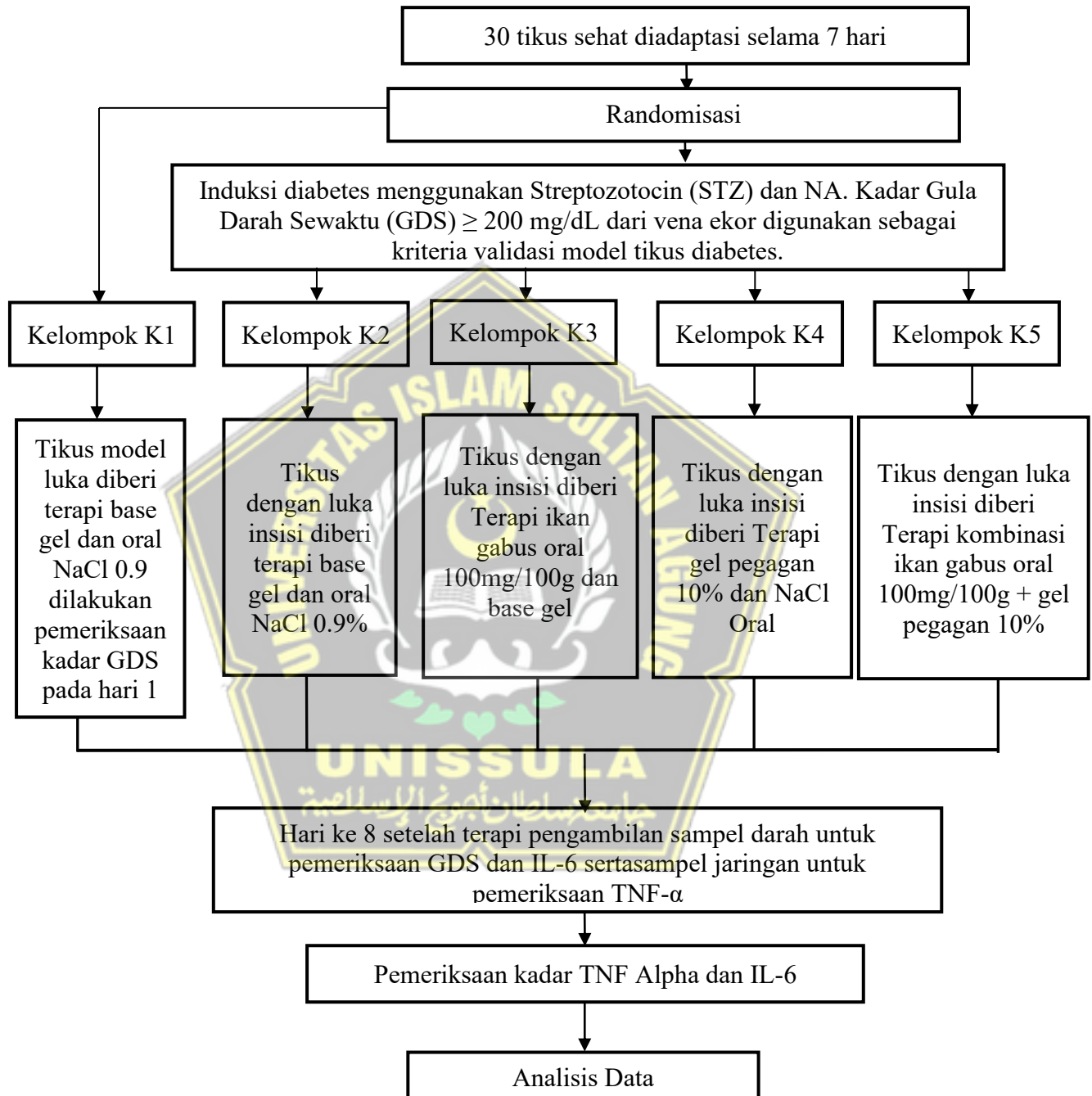
4.7. Analisa Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis secara deskriptif dengan skala data rasio dan hasilnya disajikan dalam bentuk mean $\pm$ standar deviasi (SD). Uji normalitas dilakukan menggunakan Shapiro–Wilk, sedangkan uji homogenitas varians menggunakan Levene’s test. Berdasarkan hasil uji prasyarat, perbandingan GDS Pra perlakuan antar kelompok dianalisis menggunakan ANOVA robust (Welch) dan uji lanjut Games–Howell karena varians antar kelompok tidak homogen. Data GDS Post

perlakuan dan kadar IL-6 memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas sehingga dianalisis menggunakan One-Way ANOVA, dan uji lanjut yang digunakan adalah Tukey HSD. Perubahan GDS Pra perlakuan dan GDS Post perlakuan dalam tiap kelompok dianalisis menggunakan uji Wilcoxon berpasangan. Kadar TNF- α jaringan luka dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis karena salah satu kelompok tidak memenuhi asumsi normalitas. Seluruh pengujian menggunakan batas kemaknaan $p < 0,05$ dan pengolahan data dilakukan dengan IBM SPSS Statistics versi 26.0 untuk Windows.



4.8. Alur Penelitian



Gambar 4.2. Alur Penelitian

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

Tabel 5.1 dan lampiran 3 menunjukkan hasil uji fitokimia ekstrak etanol Pegagan dengan temuan positif triterpenoid, yang ditandai terbentuknya cincin berwarna jingga setelah penambahan reagen asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 .

Tabel 5.1. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol pegagan.

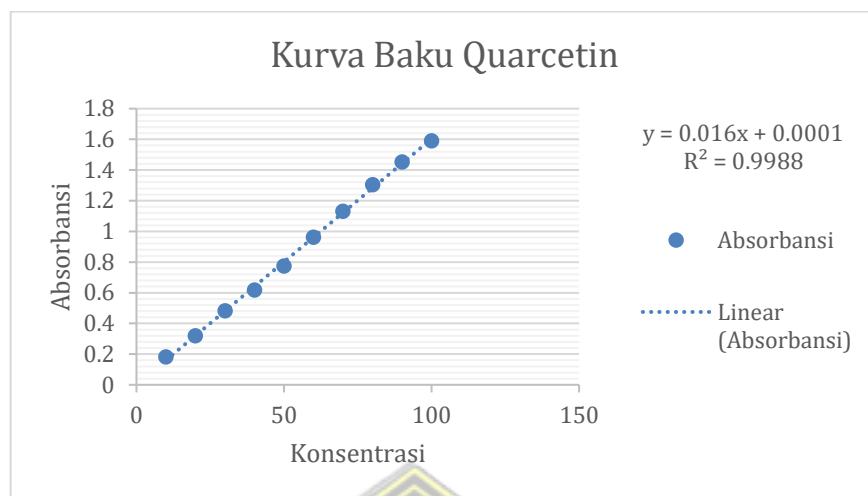
No	Uji fitokimia	Reagen	Ekstrak Etanol Pegagan	Keterangan Hasil
1.	Triterpenoid	Asam asetat anhidrat H_2SO_4	+	(+) Cincin warna jingga

Tabel 5.2 menampilkan data standar kuersetin (10–100 ppm) beserta nilai absorbansi yang digunakan untuk menyusun kurva baku flavonoid.

Tabel 5.2. Data standar kurva baku flavonoid (kuersetin).

Konsentrasi(ppm)	Absorbansi
100	1,59
90	1,453
80	1,304
70	1,131
60	0,962
50	0,774
40	0,618
30	0,483
20	0,32
10	0,181

Gambar 5.1 menunjukkan hubungan linear antara konsentrasi kuersetin dan absorbansi dengan persamaan regresi $y = 0,016x + 0,0001$ serta nilai $R^2 = 0,9988$.



Gambar 5.1. Kurva Baku Kuersetin.

Tabel 5.3 menunjukkan hasil pengukuran kadar flavonoid sampel ekstrak etanol Pegagan pada tiga replikasi dengan nilai absorbansi 0,663; 0,638; 0,622 dan rerata absorbansi 0,64, yang menghasilkan kandungan awal flavonoid 40,1 mg/L serta kandungan flavonoid total 0,4006 mgQE/g ekstrak berdasarkan perhitungan kurva baku.

Tabel 5.3. Hasil pengukuran kadar flavonoid sampel ekstrak etanol pegagan.

Replikasi	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (Y)	Rata-rata Absorbansi	Kandungan awal Flavonoid (mg/L)	Kandungan Flavonoid Total (mgQE/g ekstrak)
1	100	0.663	0.64	40.1	0.4006
2	100	0.638			
3	100	0.622			

Seluruh hasil penelitian yang dipaparkan pada bab ini didasarkan pada data akhir sebanyak 5 ekor tikus per kelompok (lampiran 4). Selama pelaksanaan penelitian terdapat subjek yang tidak dapat diikutsertakan dalam analisis (dropout), yang disebabkan oleh kematian selama periode penelitian serta eksklusi karena tidak memenuhi kriteria inklusi berdasarkan nilai GDS

(tidak mencapai batas yang ditetapkan dalam protokol), sehingga analisis statistik dan pelaporan hasil pada bagian ini menggunakan jumlah sampel efektif 5 ekor tikus untuk setiap kelompok perlakuan.

Pada pengukuran GDS sebelum perlakuan yang dilaporkan pada tabel 5.4., kelompok kontrol (K1) menunjukkan kadar GDS Pra perlakuan normoglikemik dengan rerata $104,20 \pm 11,78$ mg/dL dan rentang 93–122 mg/dL. Sebaliknya, kelompok diabetes (K2–K5) memiliki kadar GDS Pra perlakuan yang jauh lebih tinggi dibanding K1, dengan rerata berkisar 344,60–396,20 mg/dL. Di antara kelompok diabetes, rerata GDS Pra perlakuan terendah terdapat pada K5 ($344,60 \pm 27,36$ mg/dL), sedangkan rerata tertinggi terdapat pada K4 ($396,20 \pm 61,27$ mg/dL).

Tabel 5.4. Statistik deskriptif GDS Pra perlakuan per kelompok

Kelompok	n	Mean (mg/dL)	SD	Median	Min–Maks
K1	5	104.2	11.78	99	93–122
K2	5	381.6	50.76	373	329–445
K3	5	393.8	31.29	401	361–425
K4	5	396.2	61.27	414	314–465
K5	5	344.6	27.36	345	310–382

Uji Shapiro–Wilk pada Tabel 5.5. menunjukkan seluruh kelompok memiliki distribusi GDS Pra perlakuan yang memenuhi asumsi normalitas (seluruh $p > 0,05$). Uji Levene berdasarkan rerata pada Tabel 5.6. menunjukkan varians antar kelompok tidak homogen ($p = 0,009$), sehingga asumsi homogenitas varians untuk penggunaan ANOVA konvensional pada data GDS Pra perlakuan tidak sepenuhnya terpenuhi. Analisis komparatif GDS pra perlakuan juga dilaporkan menggunakan pendekatan ANOVA robust (Welch) untuk mengakomodasi ketidakhomogenan varians.

Tabel 5.5. Uji normalitas GDS pra perlakuan .

Kelompok	Shapiro–Wilk (p)	Interpretasi
K1	0.44	Normal
K2	0.5	Normal
K3	0.139	Normal
K4	0.763	Normal
K5	0.997	Normal

Tabel 5.6. Uji homogenitas varians GDS pra perlakuan .

Uji Levene (Homogenitas)	p	Interpretasi
Based on Mean	0.009	Tidak homogen
Based on Median	0.12	Homogen
Based on Median (adjusted df)	0.151	Homogen
Based on Trimmed Mean	0.011	Tidak homogen

Analisis komparatif pada tabel 5.7. menunjukkan terdapat perbedaan rerata GDS Pra perlakuan yang bermakna antar kelompok (ANOVA: $F=47,378$; $p<0,001$). Mengingat varians baseline tidak homogen, uji robust Welch juga dilakukan dan tetap menunjukkan perbedaan yang bermakna (Welch= $156,157$; $p<0,001$), menegaskan adanya perbedaan GDS Pra perlakuan antar kelompok secara konsisten. Perbedaan ini terutama merefleksikan kontras antara kelompok kontrol (K1) yang normoglikemik dan kelompok diabetes (K2–K5) yang hiperglikemik, sehingga mendukung bahwa injeksi STZ-NA berhasil membentuk kondisi diabetes pada kelompok perlakuan. Kelompok diabetes (K2–K5) rerata GDS pra-perlakuan berada pada kisaran yang relatif berdekatan (Tabel 5.4), sehingga kondisi awal glukosa darah antar kelompok diabetes dapat dianggap sebanding sebelum perlakuan diberikan. Pembandingan K1 dengan kelompok diabetes pada tahap pra-perlakuan ini digunakan sebagai validasi model, sedangkan evaluasi efek perlakuan selanjutnya difokuskan pada hasil pasca-perlakuan pada kelompok-kelompok diabetes sesuai rancangan penelitian.

Tabel 5.7. Uji perbedaan rerata GDS Pra perlakuan antar kelompok (ANOVA dan Welch).

Uji	Statistik	df1	df2	p-value
One-Way ANOVA (F)	47.378	4	20	<0.001
Welch ANOVA	156.157	4	9.074	<0.001

GDS pasca perlakuan didefinisikan sebagai kadar gula darah sewaktu yang diukur pada subjek yang sama setelah seluruh rangkaian perlakuan selesai diberikan sesuai kelompoknya, yaitu pada akhir periode intervensi sebelum terminasi dan pengambilan sampel pada hari ke 8. Pemeriksaan GDS Setelah perlakuan yang ditunjukkan pada Tabel 5.8., kelompok kontrol (K1) tetap menunjukkan kadar pasca-perlakuan normoglikemik dengan rerata $78,40 \pm 21,27$ mg/dL dan rentang 58–112 mg/dL. Kelompok diabetes (K2–K5) masih memiliki kadar GDS pasca perlakuan yang lebih tinggi dibanding K1, namun terdapat variasi antar kelompok. Di antara kelompok diabetes, rerata GDS pasca perlakuan tertinggi tampak pada K2 ($355,00 \pm 25,24$ mg/dL), sedangkan rerata terendah tampak pada K5 ($290,60 \pm 49,55$ mg/dL), yang menunjukkan kecenderungan penurunan kadar glukosa paling besar pada kelompok K5 dibanding kelompok diabetes lainnya.

Tabel 5.8. Statistik deskriptif GDS pasca perlakuan per kelompok

Kelompok	n	Mean (mg/dL)	SD	Median	Min–Maks
K1	5	78.4	21.27	72	58–112
K2	5	355	25.24	354	326–392
K3	5	327	35.27	326	292–364
K4	5	336	30.09	345	298–374
K5	5	290.6	49.55	298	216–339

Uji Shapiro–Wilk pada tabel 5.9. menunjukkan seluruh kelompok memiliki distribusi GDS pasca perlakuan yang memenuhi asumsi normalitas (seluruh $p > 0,05$). Uji Levene pada tabel 5.10. juga menunjukkan varians antar

kelompok homogen ($p=0,310$). Dengan demikian, data GDS pasca perlakuan memenuhi asumsi untuk dilakukan analisis komparatif antar kelompok menggunakan uji parametrik One-Way ANOVA.

Tabel 5.9. Uji normalitas GDS pasca perlakuan .

Kelompok	Shapiro–Wilk (p)	Interpretasi
K1	0.507	Normal
K2	0.919	Normal
K3	0.155	Normal
K4	0.806	Normal
K5	0.62	Normal

Tabel 5.10. Uji homogenitas varians GDS pasca perlakuan .

Uji Levene (Homogenitas)	p	Interpretasi
Based on Mean	0.31	Homogen
Based on Median	0.478	Homogen
Based on Median (adjusted df)	0.485	Homogen
Based on Trimmed Mean	0.33	Homogen

Uji Wilcoxon berpasangan pada tabel 5.11. menunjukkan bahwa secara umum sebagian besar tikus pada setiap kelompok mengalami penurunan GDS setelah perlakuan, tercermin dari dominasi “*negative ranks*” (GDS pasca perlakuan < GDS pra perlakuan). Namun demikian, penurunan tersebut belum mencapai signifikansi statistik pada seluruh kelompok (seluruh $p>0,05$). Kelompok K3 dan K5 memperlihatkan kecenderungan penurunan yang paling konsisten (4 dari 5 tikus mengalami penurunan, tanpa peningkatan), dengan hasil mendekati bermakna ($p=0,068$), sedangkan K1, K2, dan K4 menunjukkan penurunan yang lebih bervariasi dan tidak bermakna secara statistik.

Tabel 5.11. Uji Wilcoxon berpasangan GDS pra perlakuan vs GDS pasca perlakuan per kelompok

Kelompok	n	Post<Pre (turun)	Post>Pre (naik)	Sama	Z	p-value
----------	---	---------------------	--------------------	------	---	---------

K1	5	4	1	0	-1.483	0.138
K2	5	4	1	0	-1.214	0.225
K3	5	4	0	1	-1.826	0.068
K4	5	3	1	1	-1.461	0.144
K5	5	4	0	1	-1.826	0.068

Analisis perubahan GDS (Δ GDS) pada tabel 5.13. menunjukkan bahwa seluruh kelompok cenderung mengalami penurunan kadar gula darah (nilai Δ GDS negatif), dengan besar penurunan yang berbeda antar kelompok. Kelompok K3 memperlihatkan penurunan terbesar (mean $-66,80$; median $-69,00$), diikuti K4 (mean $-60,20$; median $-65,00$) dan K5 (mean $-54,00$; median $-39,00$). Kelompok kontrol (K1) dan K2 menunjukkan penurunan yang lebih kecil. Variabilitas penurunan tampak cukup besar pada K2 dan K4, sejalan dengan rentang nilai Δ GDS yang lebar dan adanya beberapa subjek yang mengalami peningkatan GDS (Δ GDS positif).

Tabel 5.12. Statistik deskriptif Δ GDS per kelompok.

Kelompok	n	Mean	SD	Median	Min–Maks
K1	5	-25.8	27.99	-32	-52–13
K2	5	-26.6	64.31	-13	-106–63
K3	5	-66.8	45.93	-69	-129–0
K4	5	-60.2	69.64	-65	-136–20
K5	5	-54	52.35	-39	-129–0

Uji Shapiro–Wilk pada tabel 5.13 menunjukkan distribusi Δ GDS pada seluruh kelompok memenuhi asumsi normalitas (seluruh $p > 0,05$). Uji Levene pada tabel 5.14 juga menunjukkan varians Δ GDS antar kelompok homogen ($p = 0,332$). Dengan demikian, perbandingan Δ GDS antar kelompok dapat dilakukan menggunakan pendekatan parametrik (One-Way ANOVA) dengan uji lanjut Tukey, bila diperlukan.

Tabel 5.13. Uji normalitas Δ GDS.

Kelompok	Shapiro–Wilk (p)	Interpretasi
K1	0.456	Normal
K2	0.865	Normal
K3	0.675	Normal
K4	0.449	Normal
K5	0.687	Normal

Tabel 5.14. Uji homogenitas varians Δ GDS.

Metode Levene	p	Interpretasi
Based on Mean	0.332	Homogen
Based on Median	0.513	Homogen
Based on Median (adjusted df)	0.516	Homogen
Based on Trimmed Mean	0.333	Homogen

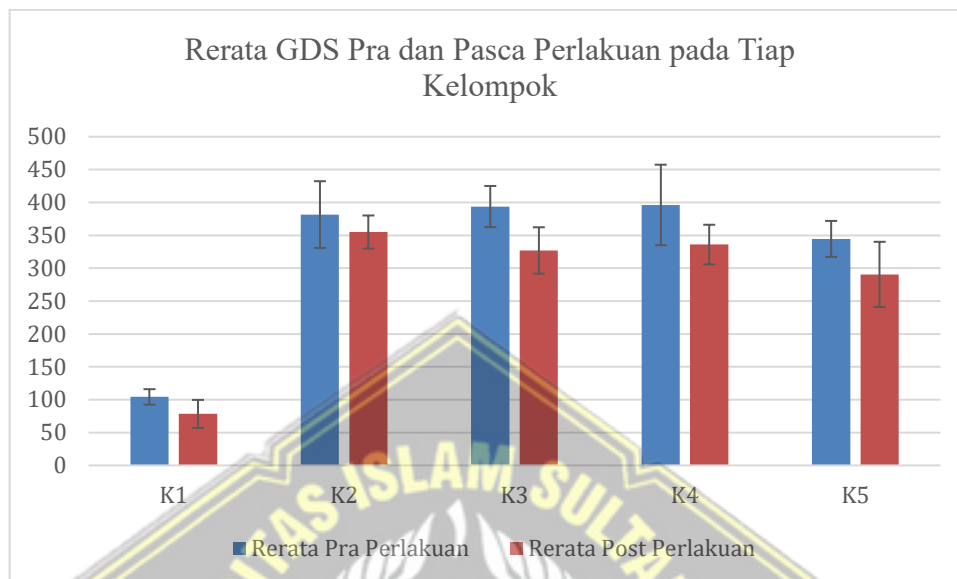
Uji One-Way ANOVA pada tabel 5.15. menunjukkan bahwa rerata Δ GDS tidak berbeda bermakna antar kelompok ($F=0,633$; $p=0,645$), sehingga secara statistik tidak terdapat perbedaan efek penurunan GDS antar kelompok perlakuan dan kontrol pada akhir pengamatan.

Tabel 5.15. Uji perbandingan Δ GDS antar kelompok (One-Way ANOVA)

Variabel	Uji	Statistik	df1	df2	p-value
Delta_GDS	One-Way ANOVA (F)	0.633	4	20	0.645

Gambar 5.2. menunjukkan perbandingan rerata kadar gula darah sewaktu (GDS) pra dan pascaperlakuan pada seluruh kelompok penelitian. Kelompok kontrol sehat (K1) memiliki nilai GDS yang lebih rendah dibandingkan kelompok lainnya baik sebelum maupun sesudah perlakuan. Pada kelompok diabetes (K2–K5), rerata GDS pra perlakuan berada pada kisaran hiperglikemik dan mengalami penurunan setelah perlakuan, dengan besar penurunan yang bervariasi antar kelompok. Error bar yang ditampilkan sebagai simpangan baku menunjukkan adanya variasi nilai GDS intra-

kelompok, namun secara umum arah perubahan GDS cenderung menurun pada seluruh kelompok perlakuan.



Gambar 5.2. Perbandingan rerata kadar gula darah sewaktu (GDS) sebelum (pra) dan sesudah (pasca) perlakuan pada masing-masing kelompok (K1–K5). Nilai disajikan dalam rerata $\pm$ simpangan baku (SD)

Analisa kadar IL-6 darah yang dilaporkan pada Tabel 5.16. menunjukkan bahwa secara deskriptif, kadar IL-6 darah tertinggi terlihat pada kelompok K2 (mean 6,478), sedangkan nilai terendah terlihat pada K3 (mean 4,064). Kelompok K5 (kombinasi) menunjukkan rerata IL-6 yang lebih rendah (mean 4,708) dibanding K2, dan cenderung mendekati kelompok dengan IL-6 rendah.

Tabel 5.16. Hasil uji statistik deskriptif ekspresi IL-6 darah.

Kelompok	Mean $\pm$ SD	Median (Min–Maks)
K1	5.012 $\pm$ 0.883	5.150 (3.760–6.090)
K2	6.478 $\pm$ 1.256	6.510 (4.520–7.600)
K3	4.064 $\pm$ 0.509	3.890 (3.440–4.740)
K4	5.056 $\pm$ 1.081	4.860 (3.540–6.390)
K5	4.708 $\pm$ 0.609	4.590 (3.890–5.520)

Uji Shapiro–Wilk yang ditunjukkan pada tabel 5.17. menunjukkan seluruh kelompok IL-6 memiliki distribusi normal (seluruh $p > 0,05$), dan uji Levene menunjukkan varians antar-kelompok homogen ($p = 0,512$). Dengan demikian, analisis perbedaan rerata IL-6 antar-kelompok memenuhi asumsi untuk dilakukan One Way ANOVA.

Tabel 5.17. Hasil uji normalitas ekspresi IL-6 darah dengan Shapiro–Wilk ($p > 0,05$ = normal) dan uji homogenitas varians menggunakan Levene ($p > 0,05$ = homogen).

Uji	Kelompok IL-6	p-value	Interpretasi
Shapiro–Wilk	K1	0.975	Normal
	K2	0.357	Normal
	K3	0.806	Normal
	K4	0.893	Normal
	K5	0.954	Normal
Levene	Based on mean	0.512	Varians homogen

Hasil uji One Way ANOVA pada tabel 5.18. menunjukkan terdapat perbedaan bermakna kadar IL-6 antar kelompok ($F = 4,703$; $p = 0,008$).

Tabel 5.18. Hasil uji One Way ANOVA untuk IL-6 (* mengindikasikan $p < 0,05$ bermakna).

Parameter	Nilai
F (df=4,20)	4.703
p-value	0.008*
Eta-squared	0.485

Uji lanjut Tukey HSD pada tabel 5.19. menunjukkan bahwa perbedaan kadar IL-6 darah yang bermakna terutama melibatkan kelompok K2. Secara spesifik, kadar IL-6 pada K2 lebih tinggi dibanding K3 ($p = 0,004$) dan lebih tinggi dibanding K5 ($p = 0,043$). Sementara itu, perbandingan pasangan kelompok lainnya tidak menunjukkan perbedaan bermakna (seluruh $p > 0,05$), yang menandakan bahwa perbedaan rerata IL-6 antar sebagian besar

kelompok berada dalam rentang variasi biologis sampel pada $n=5$ per kelompok.

Tabel 5.19. Hasil uji Post Hoc Tukey untuk IL-6 (* mengindikasikan $p<0,05$ bermakna).

Perbandingan	Selisih rerata	SE	p value	95% CI bawah	95% CI atas
K1 vs K2	-1.466	0.57675	0.121	-3.1919	0.2599
K1 vs K3	0.948	0.57675	0.489	-0.7779	2.6739
K1 vs K4	-0.044	0.57675	1	-1.7699	1.6819
K1 vs K5	0.304	0.57675	0.983	-1.4219	2.0299
K2 vs K3	2.414	0.57675	0.004*	0.6881	4.1399
K2 vs K4	1.422	0.57675	0.139	-0.3039	3.1479
K2 vs K5	1.77	0.57675	0.043*	0.0441	3.4959
K3 vs K4	-0.992	0.57675	0.445	-2.7179	0.7339
K3 vs K5	-0.644	0.57675	0.796	-2.3699	1.0819
K4 vs K5	0.348	0.57675	0.973	-1.3779	2.0739

Uji deskriptif pada tabel 5.20. menunjukkan kadar TNF- α jaringan luka tampak paling tinggi pada kelompok K5 (kombinasi) dengan mean 252,83, sedangkan nilai yang relatif lebih rendah terlihat pada K1–K2. Namun, perbedaan deskriptif ini perlu ditafsirkan bersama hasil uji komparatif karena sebaran data yang tidak sepenuhnya normal pada salah satu kelompok.

Tabel 5.20. Hasil uji statistik deskriptif ekspresi TNF- α jaringan luka.

Kelompok	Mean $\pm$ SD	Median (Min–Maks)
K1	230.82 $\pm$ 16.41	235.67 (207.56–251.26)
K2	234.12 $\pm$ 19.71	226.23 (220.68–268.10)
K3	245.44 $\pm$ 4.26	245.03 (240.57–251.22)
K4	239.91 $\pm$ 15.11	237.10 (225.39–257.92)
K5	252.83 $\pm$ 5.83	251.99 (245.75–258.96)

Uji normalitas Shapiro–Wilk pada tabel 5.21. menunjukkan bahwa distribusi kadar TNF- α jaringan luka pada kelompok K2 tidak normal ($p=0,042$), sedangkan kelompok K1, K3, K4, dan K5 menunjukkan distribusi yang memenuhi asumsi normalitas ($p>0,05$). Uji homogenitas varians

menggunakan Levene menunjukkan varians antar kelompok tetap homogen (seluruh $p > 0,05$). Meskipun varians antar kelompok homogen, adanya pelanggaran normalitas pada salah satu kelompok menjadi dasar pemilihan uji komparatif non-parametrik (Kruskal–Wallis) untuk analisis perbedaan kadar TNF- α antar kelompok.

Tabel 5.21. Hasil uji normalitas ekspresi TNF- α jaringan luka dengan Shapiro–Wilk ($p > 0,05$ = normal) dan uji homogenitas varians menggunakan Levene ($p > 0,05$ = homogen).

Komponen uji	Kelompok/Metode	p-value
Normalitas (Shapiro–Wilk)	K1	0,878
	K2	0,042
	K3	0,901
	K4	0,267
	K5	0,440
Homogenitas varians (Levene)	Based on Mean	0,112
	Based on Median	0,453
	Based on Median (adjusted df)	0,474
	Based on Trimmed Mean	0,135

Uji Kruskal–Wallis pada tabel 5.22. menunjukkan bahwa perbedaan kadar TNF- α jaringan luka antar kelompok tidak bermakna secara statistik ($p = 0,100$). Dengan demikian, meskipun secara deskriptif kelompok K5 tampak memiliki TNF- α lebih tinggi, temuan tersebut belum dapat dinyatakan sebagai perbedaan yang konsisten secara statistik pada sampel $n = 5$ per kelompok.

Tabel 5.22. Hasil uji Kruskal Wallis untuk TNF- α

Parameter	Nilai
Chi-square	7.769
df	4
p-value	0.1

5.2. Pembahasan Penelitian

Analisis kadar IL-6 serum menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan pada hari ke 8. Nilai rerata IL-6 tertinggi tampak pada kelompok K2 ($6,478 \pm 1,256$), sedangkan nilai rerata IL-6 terendah tampak pada kelompok K3 ($4,064 \pm 0,509$) dan nilai rerata rendah juga tampak pada kelompok K5 ($4,708 \pm 0,609$). Analisis prasyarat statistik menunjukkan distribusi data IL-6 yang normal dan varians yang homogen. Uji one-way ANOVA menunjukkan perbedaan rerata IL-6 yang bermakna ($p=0,008$), sedangkan uji lanjut post-hoc menunjukkan perbedaan bermakna pada perbandingan K2 vs K3 ($p=0,004$) dan K2 vs K5 ($p=0,043$). Pola ini menunjukkan penurunan inflamasi sistemik yang terukur pada kelompok K3 dan K5 dibanding kontrol diabetes, sedangkan kelompok lain tidak menunjukkan perbedaan bermakna terhadap K2 pada uji lanjut.

Kondisi DM meningkatkan inflamasi sistemik dan inflamasi lokal luka melalui hiperglikemia kronik, pembentukan AGEs, disfungsi endotel, serta aktivasi makrofag yang mempertahankan fase inflamasi lebih lama. Studi pada model hewan DM menunjukkan ekspresi *Il-6* dan *Tnf- α* yang tinggi pada luka diabetik pada fase hari ke-7 sampai hari ke-14, disertai keterlambatan penutupan luka, sehingga peningkatan IL-6 yang terlihat pada kelompok K2 dapat dipahami sebagai refleksi dari inflamasi yang memanjang pada luka diabetik.⁹³ Literatur ulasan tentang luka diabetik juga menempatkan inflamasi kronik sebagai penghambat utama perbaikan jaringan karena inflamasi yang

menetap mengganggu angiogenesis, re-epitelisasi, dan transisi menuju fase proliferasi.⁹⁴

Kelompok K3 menunjukkan penurunan IL-6 yang paling rendah secara deskriptif dan berbeda bermakna dibanding K2, sehingga data ini mendukung dugaan bahwa pemberian Ikan gabus oral memberikan efek anti-inflamasi sistemik pada model luka diabetik. Mekanisme penyebab hasil tersebut secara teori akibat kandungan bioaktif Ikan gabus yang kaya protein/albumin, asam amino, serta fraksi nutrien yang berperan dalam modulasi mediator inflamasi dan stres oksidatif, sehingga kadar sitokin proinflamasi seperti IL-6 dapat menurun. Kajian sistematis tentang *Channa striatus* melaporkan bukti eksperimental efek anti-inflamasi pada berbagai kondisi inflamasi dan situasi penyembuhan luka, meskipun kajian tersebut juga menekankan perlunya pemetaan konstituen aktif dan mekanisme yang lebih spesifik.⁹⁵ Bukti pendukung tambahan menunjukkan albumin dari ekstrak Ikan gabus dapat berkaitan dengan penurunan mediator proinflamasi termasuk IL-6 dan NF- κ B pada konteks inflamasi berat, sehingga efek modulasi inflamasi sistemik masih biologis-rasional untuk menjelaskan pola IL-6 pada K3.⁹⁶

Kelompok K4 (gel *Pegagan* topikal) tidak menunjukkan perbedaan bermakna dibanding K2 pada IL-6 darah, sehingga hasil ini lebih konsisten dengan efek *Pegagan* yang dominan lokal pada mikrolingkungan luka dibanding efek sistemik yang terukur di serum. Literatur terbaru pada luka diabetik menunjukkan *Pegagan* dapat menurunkan inflamasi yang digerakkan makrofag dan menekan sitokin proinflamasi termasuk IL-6

melalui modulasi jalur AKT/MAPK/NF- κ B, sekaligus mempercepat penutupan luka pada model diabetik.⁹⁷ Perbedaan rute pemberian menjelaskan ketidaksesuaian antara efek biologis lokal *Centella* pada jaringan luka dan keluaran yang diukur sebagai IL-6 darah, karena IL-6 serum tidak selalu menangkap perubahan sitokin pada jaringan luka secara langsung ketika paparan sistemiknya terbatas.

Kelompok kombinasi (K5) menunjukkan IL-6 darah yang lebih rendah dibanding K2 dan berbeda bermakna, sehingga kombinasi tetap memperlihatkan arah efek anti-inflamasi sistemik dibanding kontrol DM. Data tersebut belum menunjukkan superioritas yang konsisten dibanding K3, sehingga model ini lebih mendukung interpretasi bahwa kontribusi utama penurunan IL-6 serum berasal dari komponen oral *Ikan gabus*, sedangkan *Centella* topikal cenderung berperan pada kompartemen lokal luka. Penafsiran tersebut juga perlu mempertimbangkan dinamika waktu IL-6 yang bersifat fluktuatif selama penyembuhan luka diabetik, karena beberapa model DM menunjukkan puncak dan peningkatan IL-6 yang bergeser ke fase pertengahan–akhir penyembuhan.⁹³ Ukuran sampel efektif yang kecil per kelompok ($n=5$) juga meningkatkan risiko *type II error* pada perbandingan tertentu, sehingga ketidakbermaknaan pada K4 versus K2 dapat mencerminkan keterbatasan daya uji selain ketiadaan efek biologis.

Hasil penelitian ini menunjukkan kadar TNF- α jaringan luka yang relatif berdekatan antar-kelompok pada hari ke-7 pasca intervensi, dengan rerata tertinggi pada kelompok kombinasi (K5) $252,83 \pm 5,83$, diikuti K3

245,44 ± 4,26, K4 239,91 ± 15,11, K2 234,12 ± 19,71, dan K1 230,82 ± 16,41.

Uji normalitas menunjukkan distribusi TNF- α pada K2 tidak normal ($p=0,042$), sedangkan kelompok lain memenuhi asumsi normalitas, sehingga analisis komparatif menggunakan Kruskal–Wallis. Uji Kruskal–Wallis menunjukkan perbedaan kadar TNF- α jaringan luka antar-kelompok tidak bermakna secara statistik ($p=0,100$).

Kadar TNF- α jaringan luka pada hari ke-7 pada penelitian ini tidak menunjukkan perbedaan bermakna antar-kelompok, meskipun terdapat variasi rerata secara deskriptif. Hari ke-7 sendiri merupakan time-point yang lazim dipakai untuk mengevaluasi apakah respons inflamasi masih “bertahan” atau mulai menurun pada fase transisi menuju proliferasi; beberapa penelitian bahkan menunjukkan perbedaan TNF- α pada hari ke-7 dapat terdeteksi pada jaringan luka (misalnya pada model luka diabetik, kadar IL-6 dan TNF- α serum maupun jaringan pada hari ke-7 meningkat dan dapat ditekan oleh intervensi).⁹⁸ Studi lain juga memperlihatkan bahwa TNF- α pada homogenat jaringan luka dapat meningkat seiring waktu dan terlihat menonjol pada hari ke-7 pada kondisi tertentu, sehingga pengukuran di hari ke-7 tetap relevan untuk menangkap inflamasi yang persisten atau tertunda.⁹⁹

Tidak bermaknanya TNF- α antar-kelompok pada penelitian ini dapat dijelaskan oleh perbedaan sifat biologis dan “kompartemen” biomarker yang diukur. TNF- α merupakan sitokin proinflamasi kunci yang bekerja dominan di mikrolingkungan luka untuk mengatur rekrutmen sel inflamasi, migrasi sel, dan komunikasi awal antar sel penyembuh luka; kadarnya sangat dipengaruhi

heterogenitas lokasi pengambilan jaringan (area yang lebih nekrotik vs lebih granulasional), komposisi sel pada potongan jaringan, dan dinamika lokal yang bisa tidak seragam antar individu.¹⁰⁰

Berkebalikan dengan TNF- α , kadar IL-6 lebih mencerminkan respons inflamasi sistemik dan “*spill-over*” dari jaringan yang meradang, serta berperan pada jejaring sitokin dan fase perbaikan jaringan (angiogenesis, re-epitelisasi, dan pembentukan jaringan granulasi). Secara fisiologis, IL-6 memiliki profil regulasi yang lebih luas (diproduksi banyak tipe sel) dan dapat lebih “sensitif” menangkap efek intervensi yang menurunkan beban inflamasi secara umum, sehingga wajar bila IL-6 serum menunjukkan perbedaan bermakna walaupun TNF- α lokal tidak berubah bermakna.¹⁰⁰ Perbedaan signifikansi ini juga konsisten dengan temuan bahwa pola waktu IL-6 dan TNF- α tidak selalu paralel; IL-6 dapat menunjukkan puncak lebih awal dan menurun, sementara TNF- α dapat tetap tinggi/meningkat pada fase tertentu (termasuk hari ke-7) tergantung konteks biologis dan kondisi luka.⁹⁹

Berdasarkan mekanisme intervensi, gel pegagan topikal dilaporkan memiliki efek yang menonjol pada modulasi inflamasi-oksidatif dan dukungan perbaikan jaringan, sehingga efeknya bisa lebih “terlihat” pada mediator sistemik atau proses reparatif dibanding menekan TNF- α lokal secara tajam pada semua sampel.¹⁰¹ Sementara itu, ikan gabus oral dalam berbagai studi praklinik dan tinjauan sistematik dilaporkan memiliki potensi anti-inflamasi dan dapat berhubungan dengan modulasi jalur sitokin termasuk TNF- α , tetapi besarnya efek sangat kontekstual (dipengaruhi model penyakit,

dosis, bentuk sediaan, dan fase luka) sehingga tidak selalu menghasilkan penurunan TNF- α yang konsisten pada satu time-point tertentu.¹⁰² Kombinasi temuan IL-6 serum yang bermakna bersama TNF- α jaringan yang tidak bermakna lebih tepat dibaca sebagai indikasi bahwa intervensi yang diberikan mungkin lebih memengaruhi respons inflamasi sistemik/jejaring sitokin atau proses transisi perbaikan, sementara inflamasi lokal yang direpresentasikan TNF- α tetap berada pada rentang yang relatif mirip antar kelompok pada hari ke-7, ditambah adanya variasi lokal jaringan yang tinggi.

Penelitian ini menggunakan pengukuran biomarker pada satu titik waktu pascaintervensi, sehingga dinamika perubahan IL-6 dan TNF- α sepanjang fase inflamasi, proliferasi, dan remodeling belum dapat digambarkan secara menyeluruh. Penelitian ini juga belum menilai luaran klinis-struktural penyembuhan luka secara komprehensif, seperti luas dan laju penutupan luka, re-epitelisasi, angiogenesis, deposisi kolagen, serta skor histopatologi, sehingga keterkaitan perubahan biomarker dengan kualitas penyembuhan luka belum dapat disimpulkan secara langsung. Panel biomarker yang dinilai dalam penelitian ini masih terbatas, sehingga mekanisme yang mendasari perbedaan antar perlakuan, termasuk keterlibatan transisi inflamasi dan polarisasi makrofag yang belum dapat dipastikan.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

- 6.1.1.** Pemberian gel pegagan 10% pada luka insisi tikus galur Wistar model diabetes yang diinduksi streptozotocin dan nicotinamide menunjukkan kadar TNF- α jaringan luka sebesar $239,91 \pm 15,11$ dan kadar IL-6 serum sebesar $5,056 \pm 1,081$.
- 6.1.2.** Pemberian ikan gabus oral 2 mL (dosis 100 mg/100 gBB) pada tikus galur Wistar model diabetes yang diinduksi streptozotocin dan nicotinamide menunjukkan kadar TNF- α jaringan luka sebesar $245,44 \pm 4,26$ dan kadar IL-6 serum sebesar $4,064 \pm 0,509$.
- 6.1.3.** Pemberian kombinasi gel pegagan 10% dan ikan gabus oral 2 mL (dosis 100 mg/100 gBB) pada luka insisi tikus galur Wistar model diabetes yang diinduksi streptozotocin dan nicotinamide menunjukkan kadar TNF- α jaringan luka sebesar $252,83 \pm 5,83$ dan kadar IL-6 serum sebesar $4,708 \pm 0,609$.
- 6.1.4.** Secara statistik terdapat perbedaan bermakna kadar IL-6 serum antar kelompok (One-Way ANOVA $p=0,008$), dengan IL-6 pada kontrol diabetes (K2) lebih tinggi dibanding K3 ($p=0,004$) dan K5 ($p=0,043$), sedangkan kadar TNF- α jaringan luka tidak berbeda bermakna antar kelompok (Kruskal–Wallis $p=0,100$).

6.2. Saran

6.2.1. Penelitian lanjutan perlu menerapkan pengukuran serial pada beberapa titik waktu untuk menangkap dinamika IL-6 dan TNF- α selama fase inflamasi, proliferasi, dan remodeling pada proses penyembuhan luka.

6.2.2. Penelitian lanjutan perlu menambahkan luaran penyembuhan luka yang lebih komprehensif, meliputi luas luka (mm^2) dan laju/persentase penutupan luka, disertai penilaian re-epitelisasi (epithelial gap atau panjang/ketebalan epitel baru), angiogenesis (microvessel density per HPF dan/atau ekspresi VEGF serta CD31/vWF), deposisi kolagen (luas fraksi kolagen, rasio kolagen I/III; misalnya melalui Masson's trichrome atau Sirius red), serta skor histopatologi yang menilai derajat inflamasi, jaringan granulasi, neovaskularisasi, re-epitelisasi, dan maturasi kolagen. Selain itu, perlu ditambahkan panel biomarker mekanistik termasuk polarisasi makrofag M1/M2, misalnya M1 (iNOS, CD86, TNF- α , IL-1 β) dan M2 (Arg-1, CD206, IL-10, TGF- β), serta rasio M1/M2 untuk menggambarkan arah respons inflamasi pada luka.

DAFTAR PUSTAKA

- 1 Nurdin M, Yulianty R, Latief S, Prihantono, Abu J, Usman AN. *Effects of Centella asiatica (L.) Urban extract in TNF- α levels. Gac Sanit* 2021; 35: S281–S283.
- 2 Kuo YS, Chien HF, Lu W. *Plectranthus amboinicus and Centella asiatica cream for the treatment of diabetic foot ulcers. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2012; 2012. doi:10.1155/2012/418679.
- 3 Liu YQ, Zhang D, Deng J, Liu Y, Li W, Nie X. *Preparation and Safety Evaluation of Centella asiatica Total Glycosides Nitric Oxide Gel and Its Therapeutic Effect on Diabetic Cutaneous Ulcers. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2022; 2022. doi:10.1155/2022/1419146.
- 4 Apriasari ML, Puspitasari D. *Effect of channa micropeltes for increasing lymphocyte and fibroblast cells in diabetic wound healing. Journal of Medical Sciences (Faisalabad)* 2018; 18: 205–210.
- 5 Revianti S, Bayu Prabowo P, Tsurayya Priambodo N, Parwati Sari R, Andriani D, Maria Mega Samara T. *Antiulcer, Anti-Inflammatory, and Antioxidant Potential of Chana striata Gelatin Extract on The Healing of Rat Labial Traumatic Ulcers.* 2024.
- 6 Idramsiah I, Dahrizal D, Ruran M, Nair HKR. *Enhancing Diabetic Foot Ulcer Healing: The Role of Channa striata Extract Nutrition in AmLelerating Inflammatory, Proliferative, and Maturation Phases. IJNP (Indonesian Journal of Nursing Practices)* 2024; 8: 99–104.
- 7 Syed Abd Aziz Syed Hassan, Ramely R, Mazuwin Yahya M, Abd Aziz Syed Hassan S, Rosnelifaizur R, Mazuwin Maya Y *et al. Effect of Oral Channa striatus in Laparotomy Wound Healing of Malnourished Rats.* 2020<https://www.researchgate.net/publication/340807047>.
- 8 Zamanifard M, Nasiri M, Yarahmadi F, Zonoori S, Razani O, Salajegheh Z *et al. Healing of diabetic foot ulcer with topical and oral administrations of herbal products: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Int Wound J.* 2024; 21. doi:10.1111/iwj.14760.
- 9 Nurdin M, Yulianty R, Latief S, Prihantono, Abu J, Usman AN. *Effects of Centella asiatica (L.) Urban extract in TNF- α levels. Gac Sanit* 2021; 35: S281–S283.

- 10 Kuo YS, Chien HF, Lu W. *Plectranthus amboinicus* and *Centella asiatica* cream for the treatment of diabetic foot ulcers. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2012; 2012. doi:10.1155/2012/418679.
- 11 Fernando Venesia N, Fachrial E, Nyoman I, Lister E. *Effectiveness Test of Centella Asiatica Extract on Improvement of Collagen and Hydration in Female White Rat (Rattus Norvegicus Wistar)*. *Technology, and Sciences (ASRJETS) American Scientific Research Journal for Engineering* 2020; 65: 98–107.
- 12 Liu YQ, Zhang D, Deng J, Liu Y, Li W, Nie X. *Preparation and Safety Evaluation of Centella asiatica Total Glycosides Nitric Oxide Gel and Its Therapeutic Effect on Diabetic Cutaneous Ulcers*. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2022; 2022. doi:10.1155/2022/1419146.
- 13 Apriasari ML, Puspitasari D. *Effect of channa micropeltes for increasing lymphocyte and fibroblast cells in diabetic wound healing*. *Journal of Medical Sciences (Faisalabad)* 2018; 18: 205–210.
- 14 Apriasari ML, Puspitasari D. *Effect of channa micropeltes for increasing lymphocyte and fibroblast cells in diabetic wound healing*. *Journal of Medical Sciences (Faisalabad)* 2018; 18: 205–210.
- 15 Idramsya I, Dahrizal D, Ruran M, Nair HKR. *Enhancing Diabetic Foot Ulcer Healing: The Role of Channa striata Extract Nutrition in AmLelerating Inflammatory, Proliferative, and Maturation Phases*. *IJNP (Indonesian Journal of Nursing Practices)* 2024; 8: 99–104.
- 16 Revianti S, Bayu Prabowo P, Tsurayya Priambodo N, Parwati Sari R, Andriani D, Maria Mega Samara T. *Antiulcer, Anti-Inflammatory, and Antioxidant Potential of Chana striata Gelatin Extract on The Healing of Rat Labial Traumatic Ulcers*. 2024.
- 17 Nurdin M, Yulianty R, Latief S, Prihantono, Abu J, Usman AN. *Effects of Centella asiatica (L.) Urban extract in TNF- α levels*. *Gac Sanit* 2021; 35: S281–S283.
- 18 Kuo YS, Chien HF, Lu W. *Plectranthus amboinicus* and *Centella asiatica* cream for the treatment of diabetic foot ulcers. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2012; 2012. doi:10.1155/2012/418679.
- 19 Liu YQ, Zhang D, Deng J, Liu Y, Li W, Nie X. *Preparation and Safety Evaluation of Centella asiatica Total Glycosides Nitric Oxide Gel and Its Therapeutic Effect on Diabetic Cutaneous Ulcers*. *Evidence-based*

- Complementary and Alternative Medicine* 2022; 2022. doi:10.1155/2022/1419146.
- 20 Dewi IDAS, Fatimah N, Kuswarini S. *Effect of Topical Gel Ethanol Extract of Gotu Kola Leaf (Centella Asiatica (L.) Urban) on Wound Healing in a White Male Rat (Rattus Norvegicus) Induced by Streptozotocin*. *Surabaya Physical Medicine and Rehabilitation Journal* 2023; 5: 78–83.
 - 21 Vijayaraghava A, Doreswamy V. *Exercise and the cytokines-interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α): A review*. *Annals of Medical Physiology* 2017; 1: 3–8.
 - 22 Jang DI, Lee AH, Shin HY, Song HR, Park JH, Kang TB et al. *The role of tumor necrosis factor alpha (Tnf- α) in autoimmune disease and current tnf- α inhibitors in therapeutics*. *Int J Mol Sci*. 2021; 22: 1–16.
 - 23 You K, Gu H, Yuan Z, Xu X. *Tumor Necrosis Factor Alpha Signaling and Organogenesis*. *Front Cell Dev Biol*. 2021; 9. doi:10.3389/fcell.2021.727075.
 - 24 Gonzalez Caldito N. *Role of tumor necrosis factor-alpha in the central nervous system: a focus on autoimmune disorders*. *Front Immunol*. 2023; 14. doi:10.3389/fimmu.2023.1213448.
 - 25 Gough P, Myles IA. *Tumor Necrosis Factor Receptors: Pleiotropic Signaling Complexes and Their Differential Effects*. *Front Immunol*. 2020; 11. doi:10.3389/fimmu.2020.585880.
 - 26 Ashcroft GS, Jeong MJ, Ashworth JJ, Hardman M, Jin W, Moutsopoulos N et al. *Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) is a therapeutic target for impaired cutaneous wound healing*. *Wound Repair and Regeneration* 2012; 20: 38–49.
 - 27 Yusuf K, Legiran L. *Efek Sitokin Proinflamasi TnF - Alpha pada Penyakit Diabetes Melitus Tipe 2: Tinjauan Literatur*. *Jurnal Integrasi Kesehatan & Sains* 2024; 6: 22–26.
 - 28 Rosyid FN. *Role of TNF- α in Diabetic Ulcer Healing Process*. *Proceeding ISETH (International Conference on Science, Technology, and Humanity)* 2016.
 - 29 Yusuf K. *The Role of TNF-Alpha in the Wound Healing Process: Molecular and Clinical Perspectives - A Systematic Literature Review*. *Jurnal RSMH Palembang* 2024; 3: 222–228.
 - 30 Rose-John S. *Interleukin-6 signalling in health and disease*. *F1000Res* 2020; 9. doi:10.12688/f1000research.26058.1.

- 31 McElvaney OJ, Curley GF, Rose-John S, McElvaney NG. *Interleukin-6: obstacles to targeting a complex cytokine in critical illness*. *Lancet Respir Med*. 2021; 9: 643–654.
- 32 Grebenciucova E, VanHaerents S. *Interleukin 6: at the interface of human health and disease*. *Front Immunol*. 2023; 14. doi:10.3389/fimmu.2023.1255533.
- 33 Reddy VKK, Shiddapur G, Jagdale N, Kondapalli MP, Adapa S. *Investigating Interleukin-6 Levels in Type 2 Diabetes Mellitus Patients With and Without Diabetic Nephropathy*. *Cureus* 2024. doi:10.7759/cureus.67014.
- 34 Lee EG, Lockett-Chastain LR, Calhoun KN, Frempah B, Bastian A, GallumLi RM. *Interleukin 6 function in the skin and isolated keratinocytes is modulated by hyperglycemia*. *J Immunol Res* 2019; 2019. doi:10.1155/2019/5087847.
- 35 Eka Kurniawan A, Risqi Fatmariza A, Manajemen Kesehatan dan, Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata I. Perbedaan kadar interleukin-6 pada penderita diabetes melitus tipe 2 terkontrol dan tidak. *JK: Jurnal Kesehatan* 2024; 2: 262–268.
- 36 Sisneo bioscience. *Centella asiatica*. <https://sisneo.com/wp-content/uploads/2024/04/planta-centella-asiatica-min.jpg>. 2021.
- 37 Prakash V, Jaiswal N, Srivastava M. *A review on medicinal properties of Centella asiatica*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 2017; 10: 69–74.
- 38 Tiwari S, Kumar B. *Phytochemical and pharmacological profiles of centella asiatica L*. 2023.
- 39 Bandopadhyay S, Mandal S, Ghorai M, Jha NK, Kumar M, Radha . *et al. Therapeutic Properties and Pharmacological Activities of Asiaticoside and Madecassoside: A Review*. *J Cell Mol Med* 2023. doi:10.1111/jcmm.17635.
- 40 Torbati FA, Ramezani M, Dehghan R, Amiri MS, Moghadam AT, Shakour N *et al. Ethnobotany, Phytochemistry and Pharmacological Features of Centella asiatica: A Comprehensive Review*. 2021 doi:10.1007/978-3-030-64872-5_25.
- 41 Chandrika UG, Prasad Kumara PAAS. *Gotu Kola (Centella asiatica): Nutritional Properties and Plausible Health Benefits*. 2015 doi:10.1016/bs.afnr.2015.08.001.
- 42 de Costa F, Barber CJS, Reed DW, Covello PS. *From plant extract to a cdna encoding a glucosyltransferase candidate: Proteomics and transcriptomics*

- as tools to help elucidate saponin biosynthesis in centella asiatica*. 2016
doi:10.1007/978-1-4939-3393-8_5.
- 43 Sun B, Wu L, Wu Y, Zhang C, Qin L, Hayashi M *et al*. *Therapeutic Potential of Centella asiatica and Its Triterpenes: A Review*. *Front Pharmacol* 2020; 11. doi:10.3389/fphar.2020.568032.
 - 44 Tiwari S, Saka VP, Singh S, Kumar G.V. N, Verma D. *Pharmaceutical potentials of Centella asiatica (L.) Urb. Medicinal Plants* 2023; 15: 270–282.
 - 45 Mahato SB, Sahu NP, Luger P, Müller E. *Stereochemistry of a triterpenoid trisamLharide from Centella asiatica. X-Ray determination of the structure of asiaticoside*. *J Chem Soc, Perkin Trans 2* 1987; : 1509–1515.
 - 46 Han X, Zhao J, Zhou H, Zhou X, Deng Z, Liu Z *et al*. *The biosynthesis of asiaticoside and madecassoside reveals tandem duplication–directed evolution of glycoside glycosyltransferases in the Apiales*. *Plant Commun* 2024; 5: 101005.
 - 47 Setiawati A, Maharani BA, Sari PAP, Wyantara KA, Saputra BW, Febriansyah R *et al*. *Deciphering the molecular pathway of an asiaticoside-rich fraction of Centella asiatica as an anti-melanogenesis agent*. *Journal of HerbMed Pharmacology* 2024; 13: 269–279.
 - 48 Tan SC, Bhattamisra SK, Chellappan DK, Candasamy M. *Actions and Therapeutic Potential of Madecassoside and Other Major Constituents of Centella asiatica: A Review*. *Applied Sciences* 2021; 11: 8475.
 - 49 Chivapat S, Chavalittumrong P, Tantisira MH. *Acute and sub-chronic toxicity studies of a standardized extract of Centella asiatica* ECa 233. 2011.
 - 50 Witkowska K, Paczkowska-Walendowska M, Garbiec E, Cielecka-Piontek J. *Topical Application of Centella asiatica in Wound Healing: Recent Insights into Mechanisms and Clinical Efficacy*. *Pharmaceutics*. 2024; 16. doi:10.3390/pharmaceutics16101252.
 - 51 Arribas-López E, Zand N, Ojo O, Snowden MJ, Kochhar T. *A Systematic Review of the Effect of Centella asiatica on Wound Healing*. *Int J Environ Res Public Health*. 2022; 19. doi:10.3390/ijerph19063266.
 - 52 Somboonwong J, Kankaisre M, Tantisira B, Tantisira MH. *Wound healing activities of different extracts of Centella asiatica in incision and burn wound models: an experimental animal study*. *BMC Complement Altern Med* 2012; 12. doi:10.1186/1472-6882-12-103.
 - 53 Ramadhanti NA, Sandhika W, Widodo ADW. *The Effect of Snakehead Fish (Channa striata) Extract on Inflammation Reaction of Skin Wound Tissue in*

- Rattus novergicus Wistar Strain. Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin* 2021; 33: 48.
- 54 Recita Indraswari, Nira Arddila, Alex Amrullah. *Chana striata Albumin Gel AmLelerate Post tooth extraction Wounds Healing on Hyperglycemic Rats. Odonto : Dental Journal* 42025; 11: 88–93.
 - 55 Prastari C, Yasni S, Nurilmala M. *Characterization of snakehead fish protein that's potential as antihyperglykemik. J Pengolah Has Perikan Indones* 2017; 20: 413.
 - 56 Alauddin A. Uji Efek Ekstrak Ikan Gabus (*Channa Striata*) Pada Luka Sayat Dengan Tikus Putih Jantan Galur Wistar Yang Diberikan Secara Oral. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN* 2015; 3.
 - 57 Isamahendra NA, Hariani L, Murtiastutik D. *Systematical Review Efektivitas Pemberian Kapsul Ekstrak Channa striata Terhadap Kadar Albumin pada Kasus Luka Bakar. Jurnal Rekonstruksi dan Estetik* 2021; 6: 65.
 - 58 Purwoko P, Putro BN, Kurniawan PA. Perbandingan Terapi Albumin dari Ekstrak Channa Micropeltes Dan Channa Striata Terhadap Peningkatan Kadar Albumin pada Pasien Hipoalbuminemia. *Jurnal Anestesi Perioperatif* 2023; 11. doi:10.15851/jap.v11n1.2469.
 - 59 Permatasari TAE, Ernirita E, Kurniaty I, Widakdo G. *Nutritional and Microbiological Characteristics of Snakehead Fish Flour (Channa Striata) and Its Modification as Weight Enhancing Supplements for Children with Tuberculosis. Food Science and Technology* 2021; 9: 45–57.
 - 60 Akhtar Hussain, Dianna J Magliano. *Diabetes Atlas. UK, 2025diabetesatlas.org* (diakses pada 31 Aug2025).
 - 61 Tomic D, Shaw JE, Magliano DJ. *The burden and risks of emerging complications of diabetes mellitus. Nat Rev Endocrinol* 2022; 18: 525–539.
 - 62 Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, Pile JC, Peters EJG, Armstrong DG *et al. 2012 Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Diabetic Foot Infectionsa. Clinical Infectious Diseases* 2012; 54: e132–e173.
 - 63 Dinata IGS, Yasa AAGWP. Tatalaksana terkini infeksi kaki diabetes. *Ganesha Medicine* 2021; 1: 91.
 - 64 Wang X, Yuan C-X, Xu B, Yu Z. *Diabetic foot ulcers: Classification, risk factors and management. World J Diabetes* 2022; 13: 1049–1065.
 - 65 Schaper NC, van Netten JJ, Apelqvist J, Bus SA, Hinchliffe RJ, Lipsky BA. *Practical Guidelines on the prevention and management of diabetic foot*

- disease (IWGDF 2019 update). *Diabetes Metab Res Rev* 2020; 36. doi:10.1002/dmrr.3266.
- 66 McDermott K, Fang M, Boulton AJM, Selvin E, Hicks CW. Etiology, Epidemiology, and Disparities in the Burden of Diabetic Foot Ulcers. *Diabetes Care* 2023; 46: 209–221.
 - 67 Jais S. Various Types of Wounds That Diabetic Patients Can Develop: A Narrative Review. *Clin Pathol* 2023; 16: 2632010X231205366.
 - 68 Fakhrizal F, Moulidiya E. *Diabetic Foot Ulcer. GALENICAL: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Mahasiswa Malikussaleh* 2025; 4: 114–123.
 - 69 Daniyal Nawaz A, Zaidi A, Elsayed B, Jemmieh K, Eledrisi M. *Perspective Chapter: Epidemiology and Risk Factors of Diabetic Foot Ulcer. In: Diabetic Foot Ulcers - Pathogenesis, Innovative Treatments and AI Applications. IntechOpen, 2024 doi:10.5772/intechopen.1004009.*
 - 70 Jain R, Kumar Tripathi N, Pant M, Anutariya C, Silpasuwanchai C. *Investigating Gender and Age Variability in Diabetes Prediction: A Multi-Model Ensemble Learning Approach. IEEE AmLess* 2024; 12: 71535–71554.
 - 71 Idramsya I, Dahrizal D, Ruran M, Nair HKR. *Enhancing Diabetic Foot Ulcer Healing: The Role of Channa striata Extract Nutrition in AmLelerating Inflammatory, Proliferative, and Maturation Phases. IJNP (Indonesian Journal of Nursing Practices)* 2024; 8: 99–104.
 - 72 Retta L, Anto EJ, Siahaan JM, Ilyas S, Bastanta M. *Effects of avocado leaf ethanol extract (persea americana mill.) Against blood sugar levels, interleukin-6 (il-6), fgf and wound area in white rats wistar strain (rattus novergus sp.) Diabetic ulcer model. African Journal of Biomedical Research* 2025. doi:10.53555/ajbr.v28i2s.7177.
 - 73 Kreiner FF, Kraaijenhof JM, von Herrath M, Hovingh GKK, von Scholten BJ. *Interleukin 6 in diabetes, chronic kidney disease, and cardiovascular disease: mechanisms and therapeutic perspectives. Expert Rev Clin Immunol.* 2022; 18: 377–389.
 - 74 Sari N, Samsul E, Narsa AC. Pengaruh Trietanolamin pada Basis Krim Minyak dalam Air yang Berbahan Dasar Asam Stearat dan Setil Alkohol. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* 2021; 14: 70–75.