

**PENGARUH KOMBINASI GEL *Centella asiatica* DAN KAPSUL  
*Channa striata* TERHADAP KADAR NF-κB DAN KGF  
(Studi Eksperimental Pada Tikus Galur Wistar Model Luka Insisi  
Diabetes yang Diinduksi Streptozotocin dan Nicotinamide)**

**TESIS**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



**Magister Ilmu Biomedis**

**Mia Shofianne Liberty**

**MBK.24.24.010515**

**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOMEDIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG  
SEMARANG  
2026**

## TESIS

**PENGARUH KOMBINASI GEL *CENTELLA ASIATICA* DAN KAPSUL  
*CHANNA STRIATA* ORAL TERHADAP NF- $\kappa$ B DAN KGF  
(Studi Eksperimental pada Luka insisi Tikus Galur Wistar Model Diabetes  
yang Diinduksi Streptozotocin dan Nicotinamide)**

Disusun oleh :

**Mia Shofianne Libery**

**MBK2424010515**

Akan dipertahankan di depan tim penguji  
Pada tanggal 5 Februari 2026  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Pembimbing I

Pembimbing II

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

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

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik  
Fakultas Kedokteran Unissula



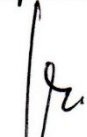
Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes  
NIK. 210198046

## LEMBAR PENGESAHAN DEWAN PENGUJI

Laporan Tesis Dengan Judul " PENGARUH KOMBINASI GEL *CENTELLA asiatica* DAN KAPSUL *CHANNA striata* TERHADAP KADAR VEGF DAN TGF- $\beta$  (Studi Eksperimental Pada Tikus Galur Wistar Model Luka Insisi Diabetes yang Diinduksi Streptozotocin dan Nicotinamide)" 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. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes       | Pembimbing I  |  |
| 5. | Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS     | Pembimbing II |  |

## 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, 24 Oktober 2025

Yang menyatakan,



(Mia Shofianne Liberty)

## RIWAYAT HIDUP

### A. Identitas

Nama : Mia Shofianne Liberty  
Tempat, tanggal lahir : Pekanbaru, 24 Oktober 1989  
Agama : Islam  
Jenis Kelamin : Perempuan

### B. Riwayat Pendidikan

1. SDN : Lulus Tahun 2001
2. SMPN : Lulus Tahun 2004
3. SMA : Lulus Tahun 2007
4. S1 : Lulus Tahun 2011
5. Profesi Dokter FK : Lulus Tahun 2013
6. Magister Biomedik FK Unissula : Tahun 2024-sekarang

### C. Riwayat Keluarga

Nama Suami : dr. Surya Marthias, Sp.JP, FIHA  
Nama Anak : Raisha Shanum Azzahra  
Ramzhan Danish Alashraf  
Rafazza Khalifah Hanif

## 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* DAN KAPSUL *CHANNA striata* TERHADAP KADAR NF- $\kappa$ B DAN KGF (Studi Eksperimental Pada Tikus Galur Wistar Model Diabetes yang Diinduksi Streptozotocin dan Nicotinamide)** 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 II 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 I 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. Suami saya dr. Surya Marthias, Sp.JP, FIHA., anak-anak saya, Raisha Shanum, Ramzhan dan Rafazza yang senantiasa menjadi sumber inspirasi dan semangat dalam setiap tahap penyusunan tesis ini.
10. Orang tua saya tercinta, Papa dan Mama, yang senantiasa mendoakan, memberikan dukungan, serta menjadi sumber kekuatan dalam perjalanan akademik saya.

11. Sahabat saya dr. Eria Sartika yang senantiasa memberikan masukan dan motivasi dalam penelitian saya dan penulisan tesis ini.

12. 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, 24 Oktober 2025

Penulis,



(Mia Shofianne Liberty)



## ABSTRACT

**Background :** Impaired wound healing in diabetes is characterized by increased Nuclear Factor kappa B (NF- $\kappa$ B) expression as a key regulator of inflammatory signaling and altered Keratinocyte Growth Factor (KGF) activity involved in epithelial proliferation and tissue regeneration. *Centella asiatica* exhibits anti-inflammatory and collagen-stimulating effects, whereas *Channa striata* provides albumin and essential amino acids that support tissue repair. This study evaluated the effect of combined *Centella asiatica* gel and oral *Channa striata* capsules on NF- $\kappa$ B and KGF levels in a diabetic incision wound model.

**Methods :** An experimental post-test-only control group design was conducted using male Wistar rats in which type 2 diabetes was induced with streptozotocin–nicotinamide. The animals were randomly divided into five groups: K1 (negative control), K2 (diabetic control), K3 (*Centella asiatica* gel), K4 (*Channa striata* capsules), and K5 (combination therapy). Interventions were administered for 7 days. NF- $\kappa$ B and KGF levels were measured using the ELISA method.

**Results :** No significant differences were observed among groups in NF- $\kappa$ B levels ( $p = 0.685$ ), with mean values of 2.41 (K1), 2.54 (K2), 2.29 (K3), 2.09 (K4), and 2.26 (K5). Similarly, KGF levels did not differ significantly ( $p = 0.285$ ), with mean values of 750.94 (K1), 851.78 (K2), 834.33 (K3), 808.12 (K4), and 775.69 (K5).

**Conclusion :** The combination therapy did not demonstrate a statistically significant effect on NF- $\kappa$ B and KGF levels. However, the observed biological trends suggest a potential therapeutic benefit in the diabetic wound healing process.

**Keywords :**

Diabetic incisional wound, NF- $\kappa$ B, Keratinocyte growth factor, *Centella asiatica*, *Channa striata*.

## ABSTRAK

**Latar belakang :** Gangguan penyembuhan luka pada diabetes ditandai oleh peningkatan ekspresi Nuclear Factor kappa B (NF- $\kappa$ B) sebagai regulator utama jalur sinyal inflamasi serta perubahan aktivitas Keratinocyte Growth Factor (KGF) yang berperan dalam proliferasi epitel dan regenerasi jaringan. *Centella asiatica* memiliki efek antiinflamasi dan stimulasi sintesis kolagen, sedangkan *Channa striata* menyediakan albumin dan asam amino esensial yang mendukung perbaikan jaringan. Penelitian ini mengevaluasi efek kombinasi gel *Centella asiatica* dan kapsul oral *Channa striata* terhadap kadar NF- $\kappa$ B dan KGF pada model luka insisi diabetes.

**Metode :** Penelitian eksperimental *post-test only control group design* menggunakan tikus Wistar Jantan yang diinduksi diabetes dengan streptozotosin-nikotinamid untuk membentuk model diabetes tipe 2 yang dibagi secara acak menjadi lima kelompok : K1 (kontrol negatif), K2 (kontrol diabetes), K3 (gel *Centella asiatica*), K4 (kapsul *Channa striata*), dan K5 (kombinasi). Intervensi diberikan selama 7 hari. Kadar NF- $\kappa$ B dan KGF diukur menggunakan metode ELISA.

**Hasil :** Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok pada kadar NF- $\kappa$ B ( $p=0,685$ ), dengan rerata $\pm$ SD sebesar 2,41 $\pm$ 0,74 (K1), 2,54 $\pm$ 0,44 (K2), 2,29 $\pm$ 0,26 (K3), 2,09 $\pm$ 0,41 (K4), dan 2,26 $\pm$ 0,51 (K5). Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok pada kadar KGF ( $p=0,285$ ), dengan rerata $\pm$ SD sebesar 750,94 $\pm$ 117,32 (K1), 851,78 $\pm$ 100,10 (K2), 834,33 $\pm$ 98,20 (K3), 808,12 $\pm$ 75,27 (K4), dan 775,69 $\pm$ 59,57 (K5).

**Kesimpulan :** Kombinasi terapi tidak menunjukkan efek yang signifikan secara statistik terhadap kadar NF- $\kappa$ B dan KGF. Namun, terdapat kecenderungan perubahan biologis yang menunjukkan potensi manfaat terapi dalam proses penyembuhan luka diabetes.

**Kata kunci :** Luka insisi diabetes, NF- $\kappa$ B, Keratinocyte growth factor, *Centella asiatica*, *Channa striata*.

## DAFTAR ISI

|                                                                    |       |
|--------------------------------------------------------------------|-------|
| HALAMAN JUDUL .....                                                | ii    |
| RIWAYAT HIDUP .....                                                | v     |
| KATA PENGANTAR.....                                                | vi    |
| <i>ABSTRACT</i> .....                                              | ix    |
| DAFTAR ISI .....                                                   | xi    |
| DAFTAR SINGKATAN .....                                             | xiv   |
| DAFTAR GAMBAR.....                                                 | xvii  |
| DAFTAR TABEL .....                                                 | xviii |
| 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. Orisinalitas Penelitian .....                                 | 6     |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....                                      | 10    |
| 2.1. <i>Nuclear Factor Kappa Beta</i> (NF-κB).....                 | 10    |
| 2.1.1. Definisi <i>Nuclear Factor Kappa Beta</i> (NF-κB) .....     | 10    |
| 2.1.2. Peran NF-κB dalam Penyembuhan Luka.....                     | 11    |
| 2.2. <i>Keratinocyte Growth Factor</i> (KGF).....                  | 14    |
| 2.2.1. Definisi <i>Keratinocyte Growth Factor</i> (KGF) .....      | 14    |
| 2.2.2. Peran KGF dalam Penyembuhan Luka Diabetes.....              | 15    |
| 2.3. Luka pada Diabetes Mellitus.....                              | 17    |
| 2.3.1. Definisi Luka pada Diabetes Mellitus .....                  | 17    |
| 2.3.2. Peran Diabetes Mellitus dalam Proses Penyembuhan Luka ..... | 18    |

|                                                                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.3.3.Induksi Diabetes pada Tikus Wistar .....                                                                                  | 22 |
| 2.4. <i>Centella asiatica</i> .....                                                                                             | 24 |
| 2.4.1. Definisi <i>Centella asiatica</i> .....                                                                                  | 24 |
| 2.4.2. Senyawa Bioaktif <i>Centella asiatica</i> .....                                                                          | 25 |
| 2.4.3. Peran <i>Centella asiatica</i> dalam Penyembuhan Luka Diabetes ..                                                        | 27 |
| 2.5. <i>Channa Striata</i> .....                                                                                                | 32 |
| 2.5.1. Definisi <i>Channa Striata</i> .....                                                                                     | 32 |
| 2.5.2. Kandungan Bioaktif <i>Channa Striata</i> .....                                                                           | 33 |
| 2.5.3. Peran <i>Channa striata</i> dalam Penyembuhan Luka Diabetes.....                                                         | 35 |
| 2.6. Pengaruh Kombinasi Gel <i>Centella Asiatica</i> Dan <i>Channa Striata</i> Oral Terhadap Ekspresi NF-kB (P65) dan KGF ..... | 38 |
| BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS .....                                                                        | 41 |
| 3.1. Kerangka Teori .....                                                                                                       | 41 |
| 3.2. Kerangka Konsep .....                                                                                                      | 44 |
| 3.3. Hipotesis .....                                                                                                            | 44 |
| BAB IV METODE PENELITIAN.....                                                                                                   | 45 |
| 4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....                                                                             | 45 |
| 4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional .....                                                                         | 46 |
| 4.2.1. Variabel Penelitian.....                                                                                                 | 46 |
| 4.2.2. Definisi Operasional .....                                                                                               | 47 |
| 4.3. Subjek Penelitian dan Sampel Penelitian .....                                                                              | 48 |
| 4.3.1. Subjek Penelitian .....                                                                                                  | 48 |
| 4.3.2. Sample Penelitian .....                                                                                                  | 49 |
| 4.4. Cara Penentuan Sampel Penelitian .....                                                                                     | 49 |
| 4.4.1. Besar Sample .....                                                                                                       | 50 |
| 4.5. Alat dan Bahan .....                                                                                                       | 51 |
| 4.5.1. Alat.....                                                                                                                | 51 |
| 4.5.2. Bahan.....                                                                                                               | 51 |
| 4.6. Cara Penelitian.....                                                                                                       | 52 |
| 4.6.1. Perolehan <i>Ethical Clearance</i> .....                                                                                 | 52 |
| 4.6.2. Pembuatan Ekstrak <i>Centella Asiatica</i> .....                                                                         | 52 |

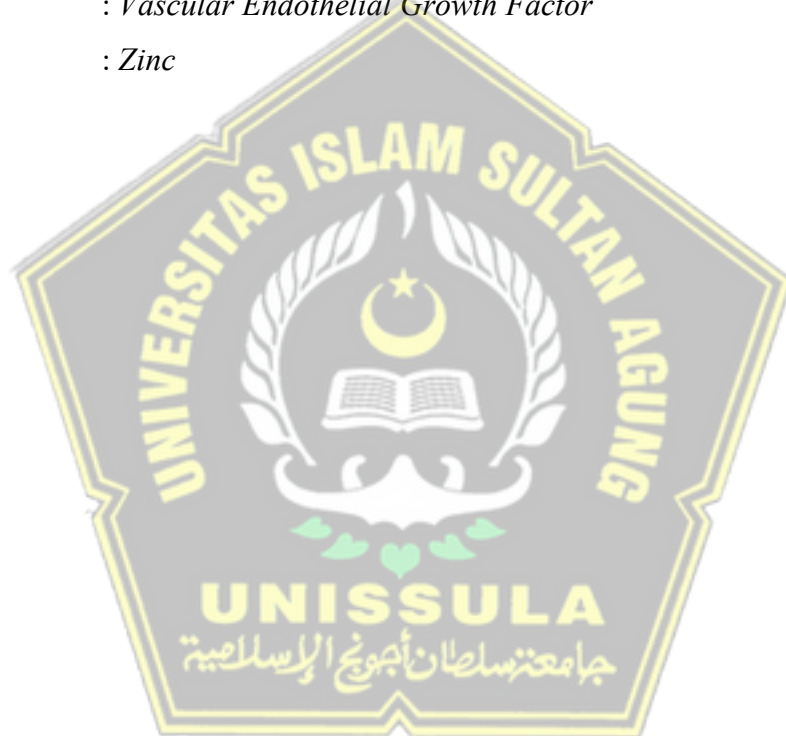
|                                                                      |     |
|----------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.6.3. Pembuatan Ekstrak Gel <i>Centella Asiatica</i> .....          | 53  |
| 4.6.4. Pembuatan Sediaan Oral dari Kapsul <i>Chana Striata</i> ..... | 54  |
| 4.6.5. Metode Pembuatan Model Luka Diabetik .....                    | 55  |
| 4.6.6. Metode Pembacaan ELISA untuk NFkB dan KGF .....               | 56  |
| 4.7. Analisa Data .....                                              | 59  |
| 4.8. Tempat dan Waktu Penelitian .....                               | 60  |
| 4.9. Alur Penelitian .....                                           | 61  |
| BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN .....                                     | 62  |
| 5.1. Hasil Penelitian .....                                          | 62  |
| 5.1.1. Ekstraksi dan Uji Fitokimia <i>Centella asiatica</i> .....    | 62  |
| 5.1.2. Analisis Profil Asam Amino <i>Channa striata</i> .....        | 64  |
| 5.1.3. Hasil Analisis Validitas (GDS) hewan coba .....               | 65  |
| 5.1.4. Perubahan Morfologi Luka Selama Proses Penyembuhan .....      | 70  |
| 5.1.5. Hasil Analisis Kadar NF-κB .....                              | 73  |
| 5.1.6. Hasil Analisis Kadar KGF .....                                | 75  |
| 5.2. Pembahasan .....                                                | 78  |
| BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN .....                                    | 86  |
| 6.1. Kesimpulan .....                                                | 86  |
| 6.2. Saran .....                                                     | 86  |
| DAFTAR PUSTAKA .....                                                 | 88  |
| LAMPIRAN .....                                                       | 100 |

## DAFTAR SINGKATAN

|               |                                                                          |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------|
| AGE           | : <i>Advanced Glycation End-products</i>                                 |
| Bcl2          | : <i>B-cell lymphoma 2</i>                                               |
| CAT           | : <i>Catalase</i>                                                        |
| COX-2         | : <i>Cyclooxygenase-2</i>                                                |
| Cu            | : <i>Cuprum</i>                                                          |
| DAMPs         | : <i>Damage-Associated Molecular Pattern</i>                             |
| dsRNA         | : <i>Double-Stranded Ribonucleic Acid</i>                                |
| E2 (PGE2)     | : <i>Prostaglandin E2</i>                                                |
| ECM           | : <i>Extracellular Matrix</i>                                            |
| ELISA         | : <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>                               |
| FGF7          | : <i>Fibroblast Growth Factor 7 (Keratinocyte Growth Factor 1)</i>       |
| FGFR          | : <i>Fibroblast Growth Factor Receptor</i>                               |
| FGFR2b        | : <i>Fibroblast Growth Factor Receptor 2b</i>                            |
| Fe            | : <i>Ferrum</i>                                                          |
| GPx           | : <i>Glutathione Peroxidase</i>                                          |
| HE            | : <i>Hematoxylin–Eosin</i>                                               |
| IFN- $\gamma$ | : <i>Interferon Gamma</i>                                                |
| IKB           | : <i>Inhibitor of <math>\kappa</math>B</i>                               |
| IKK           | : <i>I<math>\kappa</math>B Kinase</i>                                    |
| IL-1          | : <i>Interleukin 1</i>                                                   |
| IL-1 $\beta$  | : <i>Interleukin 1 Beta</i>                                              |
| IL-6          | : <i>Interleukin 6</i>                                                   |
| iNOS          | : <i>Inducible Nitric Oxide Synthase</i>                                 |
| IRAK          | : <i>Interleukin-1 Receptor-Associated Kinase</i>                        |
| JAK/STAT3     | : <i>Janus Kinase/Signal Transducer and Activator of Transcription 3</i> |
| JNK           | : <i>c-Jun N-terminal Kinase</i>                                         |
| KGF           | : <i>Keratinocyte Growth Factor (FGF7)</i>                               |
| KGF2          | : <i>Keratinocyte Growth Factor 2 (FGF10)</i>                            |
| LTB-4         | : <i>Leukotriene B4</i>                                                  |

|                      |                                                                         |
|----------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| LOX                  | : <i>Lipoxygenase</i>                                                   |
| MAPK                 | : <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>                               |
| M1                   | : <i>Classically Activated Macrophage (Pro-inflammatory)</i>            |
| M2                   | : <i>Alternatively Activated Macrophage (Anti-inflammatory)</i>         |
| MCP-1                | : <i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>                             |
| MMPs                 | : <i>Matrix Metalloproteinases</i>                                      |
| MyD88                | : <i>Myeloid Differentiation Primary Response 88</i>                    |
| NA                   | : <i>Nicotinamide</i>                                                   |
| NEMO                 | : <i>NF-<math>\kappa</math>B Essential Modulator</i>                    |
| NF- $\kappa$ B       | : <i>Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i> |
| NF $\kappa$ B        | : <i>Nuclear Factor kappa B</i>                                         |
| NF- $\kappa$ B1/p105 | : <i>Precursor Protein of p50 Subunit of NF-<math>\kappa</math>B</i>    |
| NF- $\kappa$ B2/p100 | : <i>Precursor Protein of p52 Subunit of NF-<math>\kappa</math>B</i>    |
| NK                   | : <i>Natural Killer</i>                                                 |
| NLRP3                | : <i>NOD-like Receptor Family Pyrin Domain Containing 3</i>             |
| Nrf2                 | : <i>Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2</i>                    |
| P1GF                 | : <i>Placental Growth Factor</i>                                        |
| PI3K/Akt             | : <i>Phosphoinositide 3-Kinase / Protein Kinase B</i>                   |
| PLC $\gamma$         | : <i>Phospholipase C Gamma</i>                                          |
| PPAR $\gamma$        | : <i>Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma</i>               |
| RAGE                 | : <i>Receptor for Advanced Glycation End-products</i>                   |
| RAS-MAPK             | : <i>Rat Sarcoma – Mitogen-Activated Protein Kinase Pathway</i>         |
| RelA (p65)           | : <i>NF-<math>\kappa</math>B Subunit p65</i>                            |
| RelB                 | : <i>NF-<math>\kappa</math>B Subunit RelB</i>                           |
| RHD                  | : <i>Domain Homologi Rel</i>                                            |
| ROS                  | : <i>Reactive Oxygen Species</i>                                        |
| RSV                  | : <i>Respiratory syncytial virus</i>                                    |
| SKP-1                | : <i>Protein yang Berasosiasi dengan S-phase Kinase 1</i>               |
| SCF/E3               | : <i>Skp1-Cullin-F-box Protein Complex / E3</i>                         |
| SOCS3                | : <i>Suppressor of Cytokine Signaling 3</i>                             |
| SOD                  | : <i>Superoxide Dismutase</i>                                           |

|               |                                                                           |
|---------------|---------------------------------------------------------------------------|
| STAT          | : <i>Signal Transducer and Activator of Transcription</i>                 |
| STZ           | : <i>Streptozotocin</i>                                                   |
| TAK1          | : <i>Transforming Growth Factor-<math>\beta</math>-Activated Kinase 1</i> |
| TGF- $\beta$  | : <i>Transforming Growth Factor Beta</i>                                  |
| TLR           | : <i>Toll-like Receptor</i>                                               |
| TNF- $\alpha$ | : <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>                                      |
| TRAF6         | : <i>TNF Receptor-Associated Factor 6</i>                                 |
| VCAM          | : <i>Vascular Cell Adhesion Molecule</i>                                  |
| VEGF          | : <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>                               |
| Zn            | : <i>Zinc</i>                                                             |



## DAFTAR GAMBAR

|             |                                                                   |     |
|-------------|-------------------------------------------------------------------|-----|
| Gambar 2.1. | Jalur Persinyalan NF- $\kappa$ B. ....                            | 11  |
| Gambar 2.2. | KGF-1 dan jalur TGF- $\beta$ 1/Smad. ....                         | 17  |
| Gambar 2.3. | Mekanisme Gangguan Penyembuhan luka DM. ....                      | 21  |
| Gambar 2.4. | <i>Centella asiatica</i> . ....                                   | 25  |
| Gambar 2.5. | Peran Senyawa Bioaktif <i>Centella asiatica</i> . ....            | 32  |
| Gambar 2.6. | <i>Channa Striata</i> ....                                        | 33  |
| Gambar 2.7. | Phytoconstituents Memodulasi Jalur NF- $\kappa$ B. ....           | 40  |
| Gambar 3.1. | Kerangka Teori.....                                               | 43  |
| Gambar 3.2. | Kerangka Konsep.....                                              | 44  |
| Gambar 4.1. | Skema Rancangan Penelitian.....                                   | 45  |
| Gambar 4.2. | Alur Penelitian.....                                              | 61  |
| Gambar 5.1  | Alur Penelitian.....                                              | 65  |
| Gambar 5.2. | Kurva Baku Quarcetin.....                                         | 66  |
| Gambar 5.3. | Histogram Distribusi GDS <i>Pretest</i> dan <i>Posttest</i> ..... | 70  |
| Gambar 5.4. | Morfologi Luka Insisi Pada Tikus Wistar Model Diabetes.....       | 73  |
| Gambar 5.5. | Rerata Kadar NF- $\kappa$ B pada Seluruh Kelompok Penelitian..... | 757 |
| Gambar 5.6. | Rerata Kadar KGF Pada Seluruh Kelompok Penelitian.....            | 78  |

## DAFTAR TABEL

|                                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabel 1.1. Orisinalitas Penelitian .....                                                              | 6  |
| Tabel 5.1. Uji analisis Kuantitatif fitokimia <i>Centella asiatica</i> .....                          | 64 |
| Tabel 5.2. Uji analisis kualitatif fitokimia <i>Centella asiatica</i> .....                           | 64 |
| Tabel 5.3. Profil Asam Amino Kapsul <i>Channa striata</i> .....                                       | 65 |
| Tabel 5.4. Data hasil Analisis GDS <i>Pre-treatment</i> .....                                         | 66 |
| Tabel 5.5. Uji <i>post hoc</i> Tamhane GDS <i>Pre-treatment</i> pada masing-masing<br>Kelompok .....  | 67 |
| Tabel 5.6. Data hasil Analisis GDS <i>Post-treatment</i> .....                                        | 68 |
| Tabel 5.7. Uji <i>post hoc</i> Tamhane GDS <i>Post-treatment</i> pada masing-masing<br>Kelompok ..... | 69 |
| Tabel 5.8. Data hasil Penelitian Kadar NF- $\kappa$ B .....                                           | 73 |
| Tabel 5.9. Data hasil Penelitian Kadar KGF .....                                                      | 76 |



## DAFTAR LAMPIRAN

|                                                         |     |
|---------------------------------------------------------|-----|
| Lampiran 1. Surat Izin Penelitian.....                  | 100 |
| Lampiran 2. Ethichal Clearence .....                    | 101 |
| Lampiran 3. Hasil Fitokimia Centella asiatica .....     | 102 |
| Lampiran 4. Hasil Pemeriksaan Kadar NF-κB dan KGF ..... | 105 |
| Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian .....                | 106 |



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Proses penyembuhan luka merupakan mekanisme biologis kompleks yang melibatkan fase inflamasi, proliferasi, dan remodeling yang berlangsung melalui serangkaian tahapan yang saling mempengaruhi. Pada individu sehat proses penyembuhan luka umumnya berjalan efektif, tetapi pada penderita Diabetes Mellitus (DM) proses penyembuhan luka dapat terganggu.<sup>1</sup> Gangguan penyembuhan luka pada penderita DM diperkirakan terjadi pada 25% penderita, dimana satu dari lima pasien akan mengalami luka kronis, seperti *Diabetic Foot Ulcer* (DFU). DFU sering kali berujung pada amputasi ekstremitas bawah sehingga menimbulkan beban ekonomi, sosial, dan psikososial yang signifikan bagi penderita.<sup>2</sup>

Pada DM terjadi peningkatan aktivasi dari nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B), sehingga menyebabkan terjadinya peradangan kronis yang menghambat proses penyembuhan luka.<sup>3-5</sup> NF- $\kappa$ B adalah salah satu regulator utama fase inflamasi yang mengatur sekresi sitokin, faktor pertumbuhan, proliferasi sel, modulasi ekspresi matrix metaloproteinase (MMP) dan aktivasi respons imun bawaan.<sup>6</sup> Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa luka pada pasien diabetes menunjukkan tingkat aktivasi NF- $\kappa$ B yang lebih tinggi dibandingkan kelompok non diabetik.<sup>5</sup>

Faktor pertumbuhan juga memiliki peran krusial dalam proses penyembuhan luka, salah satunya adalah keratinocyte growth factor (KGF)

yang dikenal juga sebagai fibroblast growth factor-7 (FGF-7). KGF berperan menstimulasi proliferasi keratinosit dan mempercepat penyembuhan melalui mekanisme re-epitelialisasi.<sup>7,8</sup> Penelitian sebelumnya melaporkan adanya penurunan kadar faktor pertumbuhan pada luka hewan diabetes, dengan pola induksi KGF yang bersifat prematur, tertunda, atau bahkan tidak muncul dibandingkan dengan tikus sehat. Penurunan kadar KGF berhubungan dengan keterlambatan pembentukan epitel baru dan memperpanjang waktu penyembuhan luka.<sup>9</sup>

*Centella asiatica* memiliki senyawa bioaktif seperti asiaticoside, madecassoside, asam asiatic, dan asam madecassic yang terbukti dapat mempercepat penyembuhan luka.<sup>10</sup> Pemberian ekstrak *Centella asiatica* dapat menekan infiltrasi neutrofil secara berlebihan dan menurunkan pelepasan mediator inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, dan IgE, serta menghambat ekspresi iNOS, COX-2, NF- $\kappa$ B, dan aktivitas enzim lipxygenase (LOX) di area jaringan kulit yang mengalami kerusakan.<sup>11,12</sup> Kandungan flavonoid dalam *Centella asiatica* juga terbukti dapat menghambat ekspresi NF- $\kappa$ B dan menurunkan mediator inflamasi.<sup>13</sup> *Centella asiatica* juga dilaporkan dapat merangsang pembentukan filopodia dan mempercepat regenerasi jaringan luka melalui aktivasi jalur pensinyalan FAK, Akt, dan MAPK.<sup>14</sup> *Channa striata* merupakan salah satu sumber pangan yang secara tradisional digunakan untuk mempercepat pemulihan luka dan meningkatkan kesehatan.<sup>15</sup> *Channa striata* mengandung albumin dan mineral penting seperti Zn, Cu, dan Fe yang berperan dalam proses

penyembuhan luka.<sup>16</sup> *Channa striata* juga mengandung omega-3 yang mampu menghambat aktivasi TLR-4 beserta kaskade hilirnya, termasuk NF- $\kappa$ B sehingga dapat menurunkan produksi sitokin proinflamasi.<sup>17,18</sup> Kandungan lain dalam *Channa striata* yang tidak kalah penting adalah *polyunsaturated fatty acids* (PUFA) juga memiliki aktivitas antiinflamasi melalui modulasi jalur transduksi sinyal NF- $\kappa$ B dan *peroxisome proliferator-activated receptor gamma* (PPAR $\gamma$ ).<sup>19</sup> *Channa striata* juga kaya akan asam amino seperti arginin, glisin, dan glutamin yang berperan dalam sintesis kolagen, pembentukan proteoglikan, serta proses remodeling jaringan yang dapat mendukung percepatan penyembuhan luka.<sup>20</sup>

Meskipun *Centella asiatica* dan *Channa striata* telah banyak diteliti dalam penyembuhan luka diabetes, kajian mengenai mekanisme keduanya masih terfokus pada aspek tunggal. Selain itu, penelitian terhadap *Centella asiatica* umumnya hanya menilai perannya sebagai anti-inflamasi melalui modulasi NF- $\kappa$ B atau perannya sebagai stimulator proliferasi saja.<sup>11</sup> Studi mengenai *Channa striata* juga sebagian besar hanya menitikberatkan pada perannya dalam mendukung proliferasi jaringan melalui peningkatan kolagen, angiogenesis, dan regenerasi, meskipun ekstrak ini juga terbukti memiliki aktivitas anti-inflamasi melalui kandungan asam lemak esensial, mineral, dan peptida bioaktif.<sup>16,17,17</sup> Dengan demikian, kombinasi *Centella asiatica* dan *Channa striata* menawarkan pendekatan terapeutik yang lebih komprehensif karena mampu menarget dua fase kunci penyembuhan luka secara sinergis dengan menekan inflamasi berlebih melalui modulasi NF- $\kappa$ B,

sekaligus mengoptimalkan fase proliferasi melalui peningkatan faktor pertumbuhan seperti KGF. Potensi sinergis ini belum banyak dieksplorasi dalam penelitian sebelumnya, sehingga penting untuk dikaji lebih lanjut guna memberikan dasar ilmiah bagi pengembangan terapi yang lebih efektif pada penyembuhan luka diabetes.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Apakah terdapat pengaruh pemberian kombinasi gel *Centella asiatica* dan kapsul *Channa striata* terhadap kadar NF- $\kappa$ B dan KGF pada Tikus galur Wistar Model Diabetes.

## **1.3. Tujuan Penelitian**

### **1.3.1. Tujuan Umum**

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk membuktikan pengaruh kombinasi pemberian gel *Centella asiatica* dan kapsul *Channa striata* terhadap kadar NF- $\kappa$ B dan KGF pada Tikus galur Wistar Model Diabetes.

### **1.3.2. Tujuan Khusus**

- a. Membuktikan pengaruh gel *Centella asiatica* 10% terhadap kadar NF- $\kappa$ B dan KGF pada Tikus galur Wistar Model Diabetes.
- b. Membuktikan pengaruh kapsul *Channa striata* 100mg/100g BB terhadap kadar NF- $\kappa$ B dan KGF pada Tikus galur Wistar Model Diabetes.

- c. Membuktikan pengaruh gel *Centella asiatica* 10% dan kapsul *Channa striata* 100mg/100g BB terhadap kadar NF- $\kappa$ B dan KGF pada Tikus galur Wistar Model Diabetes.

#### **1.4. Manfaat penelitian**

##### **1.4.1. Manfaat Teoritis**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan mengenai kombinasi gel *Centella asiatica* dan kapsul *Channa striata* terhadap kadar NF- $\kappa$ B dan KGF pada tikus galur wistar model diabetes.

##### **1.4.2. Manfaat Praktis**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pemanfaatan kombinasi gel *Centella asiatica* dan kapsul *Channa striata* dalam mempercepat perbaikan luka pada diabetes.

## 1.5. Orisinalitas Penelitian

**Tabel 1.1. Orisinalitas Penelitian**

| No. | Peneliti, Tahun                                                                                           | Judul                                                                                                                                                | Metode                | Hasil penelitian                                                                                                                                    |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1.  | Zhujun Yin, Haiyang Yu, She Chen, Chunhua Ma, Xiao Ma, <i>et al.</i> , 2015. <sup>21</sup>                | <i>Asiaticoside attenuates diabetes-induced cognition deficits by regulating PI3K/Akt/NF-κB pathway</i>                                              | Eksperimental in vivo | Asiaticoside menghambat respons inflamasi yang dimediasi NF-κB dengan menurunkan fosforilasi IκBα dan NF-κB.                                        |
| 2.  | Amena Mahmood, Ambrish K. Tiwari, Kazım Şahin, Ömer Küçük, Shakir Ali, tahun 2016. <sup>22</sup>          | <i>Triterpenoid saponin-rich fraction of Centella asiatica decreases IL-1β and NF-κB, and augments tissue regeneration and excision wound repair</i> | Eksperimental in vivo | TSF menurunkan ekspresi IL-1β dan NF-κB, meningkatkan epitelialisasi dan sintesis kolagen, serta menurunkan MMP pada Tikus model dengan luka eksisi |
| 3.  | Rohmayanti Widarika Santi Hapsari, tahun 2021. <sup>23</sup>                                              | <i>In vivo study of Centella asiatica (L.) Urban as a drug gel for diabetes wounds</i>                                                               | Eksperimental in vivo | Gel <i>Centella asiatica</i> 3%, 5%, dan 7% dapat mempercepat penyembuhan luka tikus model diabetes                                                 |
| 4.  | Juraiporn Somboonwong, Mattana ankaisre, Boonyong antisira, Mayuree H antisera, tahun 2012. <sup>24</sup> | <i>Wound healing activities of different extracts of Centella asiatica in incision and burn wound models: an experimental animal study</i>           | Eksperimental in vivo | Ekstrak <i>Centella asiatica</i> (HexE, EtAcE, MeE, dan AqE) menunjukkan aktivitas penyembuhan luka pada luka sayatan dan luka bakar.               |
| 5   | Hendri Poernomo, Setiawan DS, tahun 2022. <sup>25</sup>                                                   | <i>The Effect Of Pegagan Gel (Centella Asiatica (L.) Urban) On Wound Healing Processes In Mice (Mus Musculus) In Vivo</i>                            | Eksperimental in vivo | Gel ekstrak <i>Centella Asiatica</i> 5%, 10%, dan 15% dapat meningkatkan jumlah sel fibroblas.                                                      |

| No. | Peneliti, Tahun                                                                                       | Judul                                                                                                         | Metode                            | Hasil penelitian                                                                                                                             |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 6   | Soon Hong Kwan, Nur Hidayah Kaz Abdul Aziz, Mohd Nazri Ismail, tahun 2020. <sup>26</sup>              | <i>Bioactive Proteins in Channa striata Promote Wound Healing through Angiogenesis and Cell Proliferation</i> | Eksperimental in vivo dan ex vivo | Ekstrak <i>Channa striata</i> freeze-dried (FDWE) dan spray-dried (SDWE) meningkatkan proliferasi sel dan mendukung angiogenesis.            |
| 7   | Muhammad Reza Setiawan, Nurdiana Dewi, et al., tahun 2015. <sup>16</sup>                              | <i>Extract of haruan (Channa striata) increases neocapillaries count in wound healing process</i>             | Eksperimental in vivo             | Oral <i>Channa striata</i> 25%, 50% dan 100% selama 7 hari meningkatkan neokapiler luka mukosa bukal.                                        |
| 8   | Syed Abd Aziz Syed Hassan, Ramely Rosnelifaizur, Yahya Mazuwin Maya, et al. Tahun 2020. <sup>27</sup> | <i>Effect of Oral Channa striatus in Laparotomy Wound Healing of Malnourished Rats</i>                        | Eksperimental in vivo             | Pemberian <i>Channa striata</i> oral 100 mg/100 g BB setiap hari selama 7 hari meningkatkan tensile strength, fibroblas, dan hidroksiprolin. |

Penelitian yang dilakukan oleh Zhujun Yin *et al.* (2015) pada tikus Sprague-Dawley menunjukkan bahwa pemberian asiaticoside 20–40 mg/kg selama 30 hari mampu menghambat respons inflamasi yang dimediasi NF- $\kappa$ B melalui penurunan fosforilasi I $\kappa$ B $\alpha$  dan NF- $\kappa$ B, terutama pada konsentrasi tinggi (1  $\mu$ M). Selanjutnya, Ameena *et al.* (2016) melaporkan bahwa pemberian *Triterpenoid Saponin-Rich Fraction* (TSF) dari *Centella asiatica* selama tujuh hari dapat menurunkan ekspresi IL-1 $\beta$  dan NF- $\kappa$ B, meningkatkan epitelisasi dan sintesis kolagen, serta menurunkan kadar matriks metaloproteinase secara signifikan pada tikus dengan luka eksisi.

Rohmayanti *et al.* (2021) juga melaporkan bahwa pemberian gel topikal ekstrak *Centella asiatica* dengan konsentrasi 3%, 5%, dan 7% sekali sehari pada luka diabetik tikus *Bagg Albino Laboratory Bred – C* mempercepat penyembuhan melalui pembentukan jaringan yang lebih cepat, terutama antara hari keenam hingga kedua belas. Hal ini juga didukung oleh penelitian dari Hendri *et al.* (2022) yang juga menyatakan bahwa pemberian gel ekstrak *Centella Asiatica* 5%, 10%, dan 15% pada hewan coba dapat meningkatkan jumlah sel fibroblast sehingga mempercepat penyembuhan luka. Demikian pula, Juraipornd *et al.* (2012) menemukan bahwa ekstrak *Centella asiatica* (HexE, EtAcE, MeE, dan AqE) mempercepat penyembuhan luka insisi dalam tujuh hari dan luka bakar dalam 14 hari pada tikus Sprague–Dawley.

Penelitian Soon Hong Kwan *et al.* (2020) menunjukkan bahwa ekstrak *Channa striata* dalam bentuk *freeze-dried* (FDWE) maupun *spray-dried* (SDWE) berpotensi meningkatkan proliferasi sel endotel dan mendukung angiogenesis yang dibuktikan melalui uji *in vitro* pada sel EA.hy926 dengan konsentrasi 6,25–200 µg/mL serta uji *eks-vivo rat aortic ring assay* menggunakan konsentrasi 100 dan 200 µg/mL, di mana pertumbuhan neovaskular diamati secara signifikan pada hari ke-5. Penelitian oleh Muhammad *et al.* (2015) juga melaporkan bahwa pemberian ekstrak oral *Channa striata* dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 100% selama tujuh hari dapat meningkatkan jumlah neokapiler secara signifikan pada penyembuhan luka mukosa bukal tikus Wistar, dengan efek terbesar pada konsentrasi 100% di hari kelima. Penelitian oleh Syed *et al.* pada tikus Wistar Jantan juga

menyatakan pemberian *Channa striata* oral 100 mg/100 g BB setiap hari selama 7 hari meningkatkan *tensile strength*, fibroblas dan hidroksiprolin sehingga dapat mempercepat penyembuhan luka.

Berbeda dengan penelitian-penelitian sebelumnya yang hanya mengevaluasi salah satu bahan secara tunggal, penelitian ini mengombinasikan gel topikal *Centella asiatica* 10% dengan ekstrak oral *Channa striata* dosis 100 mg yang diberikan sekali sehari pada tikus model ulkus diabetik. Evaluasi dilakukan dengan menilai ekspresi NF- $\kappa$ B, sebagai regulator utama jalur inflamasi, serta keratinocyte growth factor (KGF), sebagai penanda regenerasi epitel. Hingga saat ini, belum ditemukan penelitian yang mengkaji kombinasi kedua bahan tersebut terhadap ekspresi NF- $\kappa$ B dan KGF pada model ulkus diabetik *in vivo*. Oleh karena itu, penelitian ini memiliki nilai orisinalitas dengan mengintegrasikan dua bahan alami berbasis lokal Indonesia melalui jalur pemberian yang berbeda, sekaligus menilai dua biomarker molekuler penting yang merepresentasikan fase inflamasi dan regeneratif pada proses penyembuhan luka kronis diabetes.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

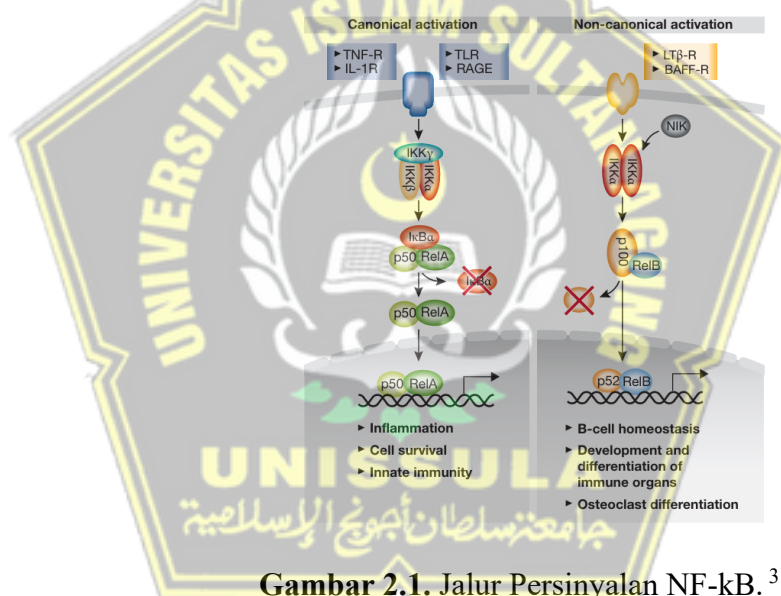
#### 2.1. *Nuclear Factor Kappa Beta* (NF- $\kappa$ B)

##### 2.1.1. Definisi *Nuclear Factor Kappa Beta* (NF- $\kappa$ B)

*Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* (NF- $\kappa$ B) adalah regulator utama dan faktor transkripsi utama yang mengatur peradangan, respons imun, dan karsinogenesis.<sup>28</sup> NF- $\kappa$ B terdiri dari lima faktor transkripsi utama, yaitu RelA (p65), Rel B, c-Rel, NF- $\kappa$ B1/p105, dan NF- $\kappa$ B2/p100, yang dapat diaktifkan oleh berbagai rangsangan seperti produk bakteri dan virus (Lipopolisakarida, dsRNA), sitokin (IL-1 $\beta$ ), radiasi UV dan ionisasi, faktor pertumbuhan, spesies oksigen reaktif (ROS), dan stres onkogenik. Lima faktor transkripsi utama ini dapat membentuk berbagai kompleks dimerik yang beragam (homo atau hetero) karena mereka memiliki *Rel Homology Domain* (RHD), yaitu domain protein khas yang dimiliki oleh keluarga faktor transkripsi NF- $\kappa$ B/Rel.<sup>29</sup>

Terdapat dua jalur aktivasi NF- $\kappa$ B, yaitu jalur NF- $\kappa$ B kanonik dan non-kanonik dengan mekanisme aktivasi yang berbeda.<sup>30</sup> Stimuli ini menyebabkan pengaktifan penghambat kompleks *Ikb Kinase* (IKK) yang terdiri dari tiga komponen penting, yaitu IKK1/IKK  $\alpha$ , IKK2/IKK $\beta$  dan NEMO (NF- $\kappa$ B *Essential Modulator*)/IKK $\gamma$ . Komponen IKK  $\alpha$  dan  $\beta$  adalah kinase dan  $\gamma$  adalah komponen regulatori dari kompleks tersebut. Pada sel yang tidak distimulasi,

kompleks ini mengikat erat dimer NF- $\kappa$ B, menghambat aktivitas pengikatan DNA dan mempertahankan lokasi dalam keadaan stabil di sitoplasma.<sup>29</sup> Aktivitas transkripsi dimer NF- $\kappa$ B diatur oleh dua jalur, yaitu jalur kanonik dan non-kanonik. Jalur sinyal kanonik mengelompok pada aktivasi kompleks IKK yang terdiri dari ketiga komponen penting dan diinduksi oleh sitokin pro-inflamasi, sedangkan jalur non-kanonik hanya memerlukan komponen IKK  $\alpha$  (gambar 2.1).<sup>29–31</sup>



**Gambar 2.1.** Jalur Persinyalan NF- $\kappa$ B.<sup>31</sup>

### 2.1.2. Peran NF- $\kappa$ B dalam Penyembuhan Luka

Pada kondisi fisiologis, aktivasi NF- $\kappa$ B merupakan bagian penting dari fase inflamasi awal penyembuhan luka. Ketika terjadi cedera jaringan, *pattern recognition receptors* (PRR) seperti *Toll-like receptor-2* (TLR-2) dan *Toll-like receptor-4* (TLR-4) mengenali DAMPs dan mengaktifkan jalur I $\kappa$ B kinase (IKK) menyebabkan degradasi I $\kappa$ B $\alpha$  serta translokasi NF- $\kappa$ B p65/p50 ke inti sel. Aktivasi

ini memicu produksi sitokin inflamasi awal seperti TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-6 yang berfungsi merekrut neutrofil dan makrofag untuk membersihkan debris serta mencegah infeksi, sehingga inflamasi akut tetap terkontrol dan akan mengalami resolusi setelah fase ini selesai.<sup>32</sup>

Aktivitas NF- $\kappa$ B secara alami menurun setelah inflamasi mereda, memungkinkan transisi menuju fase proliferasi yang ditandai dengan peningkatan angiogenesis, deposisi kolagen, dan stimulasi re-epitelialisasi. Pada fase ini, penurunan NF- $\kappa$ B penting untuk memberi ruang bagi faktor pertumbuhan seperti KGF, TGF- $\beta$ , dan VEGF untuk bekerja optimal dalam pembentukan jaringan baru. NF- $\kappa$ B berperan sebagai pemicu inflamasi awal sekaligus harus mengalami penurunan agar penyembuhan dapat berlanjut ke fase proliferaatif secara fisiologis.<sup>33,34</sup> Namun pada luka DM, kondisi hiperglikemia kronis menyebabkan peningkatan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) melalui aktivasi NADPH oxidase, glikasi protein, dan kerusakan mitokondria. Hal ini memicu aktivasi NF- $\kappa$ B secara persisten.<sup>35</sup> Aktivasi NF- $\kappa$ B yang berlebihan dan berkepanjangan menimbulkan inflamasi kronis dengan peningkatan ekspresi sitokin proinflamasi, COX-2, dan iNOS, yang menghambat resolusi inflamasi dan mendorong keadaan inflamasi berkepanjangan di jaringan luka.<sup>33,36</sup>

Hiperglikemia juga menyebabkan glikasi protein dan lipid, yang menghasilkan *Advanced Glycation End-Products* (AGEs). Interaksi

AGEs dengan reseptornya (RAGE) semakin meningkatkan aktivasi jalur NF- $\kappa$ B, sehingga memicu pelepasan berbagai mediator inflamasi, termasuk sitokin, TGF- $\beta$ , kemokin, dan *vascular cell adhesion molecule* (VCAM).<sup>33,37</sup>

Pada luka DM, makrofag M1 bertahan dalam jangka waktu yang lama sehingga menghambat transisi dari fase inflamasi ke fase proliferasi yang menyebabkan terganggunya proses penyembuhan luka. Selain itu, aktivasi NF- $\kappa$ B juga memainkan peran penting dalam memediasi aktivasi *NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3* (NLRP3) inflammasome.<sup>38</sup> NLRP3 inflammasome adalah sebuah kompleks protein sitoplasma yang menginduksi peradangan dan mengaktifkan caspase-1, yang mengarah pada pemrosesan dan pelepasan sitokin pro-inflamasi IL-1 $\beta$  dan IL-18 di area luka. Aktivasi ini selanjutnya juga berperan menghambat penyembuhan luka.<sup>39</sup>

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa luka pada pasien diabetes menunjukkan tingkat aktivasi NF- $\kappa$ B yang lebih tinggi dibandingkan kelompok non diabetik.<sup>5</sup> Aktivasi NF- $\kappa$ B yang meningkat pada DM mengganggu fase proliferasi dengan menekan faktor pertumbuhan seperti KGF, VEGF, dan PDGF, sehingga menghambat migrasi keratinosit, angiogenesis, serta deposisi kolagen yang diperlukan untuk pembentukan jaringan granulasi.<sup>40</sup> Aktivasi NF- $\kappa$ B juga meningkatkan ekspresi MMP1, MMP3, dan MMP9 yang

dapat menghalangi tahap proliferasi dari penyembuhan luka.<sup>41</sup> Kondisi patologis ini mengakibatkan luka DM terjebak pada fase inflamasi dan gagal bertransisi menuju fase proliferasi dan remodeling sehingga menyebabkan penyembuhan menjadi lambat, tidak efektif, dan lebih rentan menjadi kronis.<sup>42</sup>

## **2.2. Keratinocyte Growth Factor (KGF)**

### **2.2.1. Definisi Keratinocyte Growth Factor (KGF)**

*Keratinocyte Growth Factor* (KGF) merupakan glikoprotein monomerik berukuran  $26 \pm 28$  kDa yang diproduksi oleh berbagai jenis sel mesenkim.<sup>43</sup> KGF atau dikenal KGF-1 juga dikenal sebagai *Fibroblast Growth Factor-7* (FGF-7), merupakan faktor pertumbuhan parakrin epitel spesifik yang diproduksi oleh sel mesenkim.<sup>44,45,46</sup>

*Fibroblast growth factor* (FGF) bekerja dengan mengikat dan mengaktifkan reseptor tirosin kinase, yaitu *Fibroblast Growth Factor Receptors* (FGFRs), yang terdapat di permukaan sel. Saat ini diketahui terdapat empat jenis reseptor, yakni FGFR1, FGFR2, FGFR3, dan FGFR4.<sup>47</sup> Ikatan FGF parakrin dengan FGFR memicu terbentuknya dimer FGFR, yang kemudian mengaktifkan domain tirosin kinase intraseluler melalui mekanisme auto-trans-fosforilasi.<sup>48</sup>

Aktivasi reseptor faktor pertumbuhan fibroblas (FGFR) akan menyalakan beberapa jalur sinyal penting di dalam sel melalui protein adaptor.<sup>47</sup> Pertama, pada jalur RAS–MAPK, kedua pada jalur PI3K–AKT, ketiga, jalur PLC $\gamma$  dan terakhir mengaktifkan jalur STAT,

khususnya STAT1, STAT3, dan STAT5, yang berperan dalam mengatur ekspresi berbagai gen.<sup>49-52</sup>

### **2.2.2. Peran KGF dalam Penyembuhan Luka Diabetes**

KGF memediasi beragam fungsi mitogenik penting seperti perbaikan jaringan, perkembangan embrio, proliferasi, dan migrasi sel.<sup>53</sup> Aktivitas mitogenik pada keratinosit lebih tinggi dibandingkan dengan fibroblas dan sel endotel. Oleh karena itu, KGF dikategorikan sebagai faktor pertumbuhan yang sangat spesifik dan poten terhadap sel epitel.<sup>54</sup>

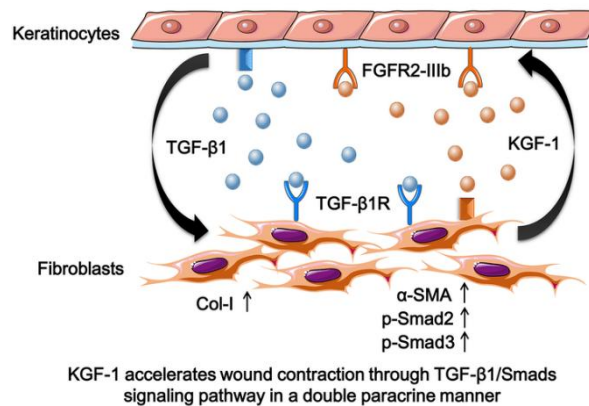
Di lokasi luka, KGF berperan dalam proses reepitelialisasi dengan memengaruhi morfogenesis, proliferasi, dan migrasi keratinosit, serta turut berperan dalam perkembangan folikel rambut.<sup>55</sup> Distribusi protein KGF di kompartemen dermal meningkat setelah terjadinya cedera, seiring dengan peningkatan ekspresi reseptor FGFR2b pada sel epitel.<sup>53</sup> Ekspresi FGFR2b pada sel-sel lain juga berkontribusi penting terhadap fungsi KGF-1 dan KGF-2 dalam perbaikan serta regenerasi jaringan (Gambar 2.2).<sup>46,56</sup> Peningkatan KGF dipicu oleh faktor pertumbuhan serum, seperti PDGF dan TGF- $\alpha$ , serta sitokin proinflamasi yang dilepaskan makrofag dan leukosit yang berperan dalam regulasi peradangan.<sup>57</sup>

Penelitian sebelumnya melaporkan adanya penurunan kadar faktor pertumbuhan pada luka hewan diabetes, dengan pola induksi FGF-7 yang bersifat prematur, tertunda, atau bahkan tidak muncul

dibandingkan dengan tikus sehat.<sup>9</sup> Kondisi ini diduga terkait dengan perubahan ekspresi gen faktor pertumbuhan, degradasi oleh proteinase di area luka, serta berkurangnya infiltrasi seluler ke dalam jaringan luka.<sup>58</sup>

Penelitian sebelumnya juga menemukan bahwa tikus tanpa KGF memiliki proliferasi keratinosit dan ekspresi VEGF yang berkurang, hal ini menunjukkan KGF berperan dalam mengatur angiogenesis selama penyembuhan luka.<sup>9</sup> KGF juga mengaktifkan TGF- $\beta$  dan merangsang ekspresi kolagen 1,  $\alpha$ -SMA, dan Smad 2/3 yang terfosforilasi sehingga dapat mempercepat kontraksi luka melalui jalur TGF- $\beta$ /Smad.<sup>46</sup>

Pemberian faktor pertumbuhan seperti TGF- $\beta$ , FGF-1, PlGF, dan KGF terbukti dapat meningkatkan penyembuhan luka diabetik.<sup>58</sup> Injeksi intradermal tunggal dari plasmid DNA KGF-1 setelah membuat luka eksisi pada tikus diabetes, diikuti oleh elektroporasi, terbukti mempercepat penutupan luka dan meningkatkan kualitas penyembuhan.<sup>59</sup> Studi *in vitro* dengan keratinosit manusia juga menunjukkan bahwa KGF juga dapat meningkatkan ekspresi VEGF.<sup>60</sup>



**Gambar 2.2.** KGF-1 dan jalur TGF-β1/Smad.<sup>46</sup>

## 2.3. Luka pada Diabetes Mellitus

### 2.3.1. Definisi Luka pada Diabetes Mellitus

Luka pada diabetes ditandai dengan peradangan yang berlebihan, penurunan angiogenesis, gangguan migrasi keratinosit, dan penurunan proliferasi fibroblas. Secara keseluruhan, perubahan ini mengakibatkan peningkatan komplikasi luka pada pasien diabetes, termasuk infeksi, dehiscensi luka, luka yang tidak kunjung sembuh dan menjadi kronis.<sup>61</sup>

Ulkus kaki diabetik (UKD) merupakan komplikasi berat dari diabetes melitus yang berdampak signifikan terhadap kualitas hidup penderita serta memberikan beban besar bagi sistem pelayanan kesehatan.<sup>62</sup> Secara global, prevalensi UKD diperkirakan mencapai 6,3% dan menjadi penyebab utama amputasi non-traumatik, mencakup sekitar 69–80% dari seluruh kasus amputasi.<sup>63,64</sup> Sekitar 20% pasien dengan UKD berisiko mengalami amputasi minor (di bawah pergelangan kaki), amputasi mayor (di atas pergelangan kaki),

atau keduanya.<sup>2</sup> Tingkat mortalitas akibat ulkus kaki diabetik juga cukup tinggi, dengan angka kematian mencapai 5% dalam satu tahun pertama dan meningkat hingga 42% dalam lima tahun.<sup>65</sup>

### 2.3.2. Pengaruh Diabetes Mellitus dalam Proses Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka pada DM jauh lebih kompleks dibandingkan dengan luka normal.<sup>48,66</sup> Hiperglikemia kronis memicu aktivasi enzim penghasil radikal bebas NAD(P)H oksidase, xantin oksidase, siklooksigenase, dan lipooksigenase. Hiperglikemia juga menurunkan aktivitas enzim antioksidan endogen seperti glutathion peroksidase (GPx), katalase (CAT), dan superoksida dismutase (SOD).<sup>67</sup> Penurunan aktivitas antioksidan endogen menyebabkan peningkatan kadar ROS di dalam sel endotel, fibroblas, dan keratinosit yang menimbulkan stres oksidatif dan kerusakan pada lipid, protein, serta DNA.<sup>68,69</sup> Selain bersifat merusak, peningkatan ROS juga berperan sebagai *second messenger* yang dapat mengaktifkan jalur pensinyalan proinflamasi, salah satunya jalur NF- $\kappa$ B yang berperan penting dalam respon inflamasi pada luka diabetik.<sup>70</sup>

Hiperglikemia kronis juga memicu inflamasi yang berkepanjangan melalui berbagai mekanisme, seperti akumulasi *Advanced Glycation End-Products* (AGEs), pembentukan biofilm mikroba, serta gangguan polarisasi makrofag M1/M2.<sup>35,67,71</sup> Keadaan proinflamasi yang berkepanjangan menunda penyembuhan dan berpotensi menyebabkan terbentuknya luka kronis.<sup>72</sup> Polarisasi ke

arah fenotipe M1 terutama dikendalikan melalui aktivasi jalur klasik NF- $\kappa$ B. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa luka pada pasien diabetes menunjukkan tingkat aktivasi NF- $\kappa$ B yang lebih tinggi dibandingkan kelompok non diabetik, yang berkaitan dengan peningkatan ekspresi *cyclooxygenase-2* (COX-2), *prostaglandin E2* (PGE2), dan *kallikrein-binding protein* (KBP).<sup>5</sup> Kondisi hiperglikemia menstimulasi aktivasi jalur NF- $\kappa$ B pada fibroblas, sehingga kompleks p65 terfosforilasi dan masuk ke dalam nukleus untuk menginduksi ekspresi gen proinflamasi.<sup>73</sup> Gangguan transformasi makrofag menuju fenotipe M2 dapat menghambat proses angiogenesis selama fase proliferasi penyembuhan luka. Peningkatan kadar *Pigment Epithelium-Derived Factor* (PEDF) telah ditemukan pada pasien DFU maupun pada model tikus db/db. Kelebihan PEDF tersebut diketahui menghambat angiogenesis pada jaringan luka, serta menurunkan jumlah dan fungsi *Endothelial Progenitor Cell* (EPC) yang pada akhirnya menyebabkan keterlambatan penyembuhan luka pada kondisi diabetes.<sup>48</sup>

Pada kondisi diabetes, *Damage-Associated Molecular Patterns* (DAMPs) mengaktifasi Aktivasi *Toll Like Receptor* (TLR), yaitu TLR-2 dan TLR-4 sehingga memicu rekrutmen adaptor *Myeloid Differentiation Primary Response 88* (MyD88) di sitoplasma. Kompleks ini kemudian merekrut *Interleukin-1 Receptor-Associated Kinase* (IRAK), yaitu IRAK4 dan IRAK1 yang setelah teraktivasi

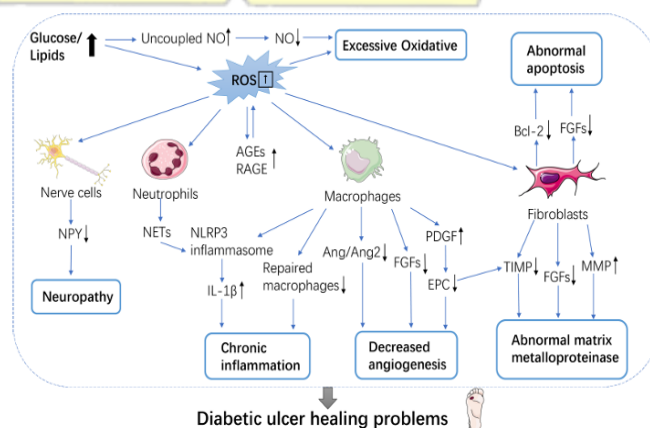
berasosiasi dengan TNF receptor-associated factor 6 (TRAF6).<sup>74,75</sup> Interaksi TRAF6 dengan IRAK1 menghasilkan pembentukan rantai poliubiquitin yang berfungsi sebagai platform aktivasi bagi *Transforming Growth Factor- $\beta$ -Activated Kinase 1* (TAK1) yang merupakan serin/treonin kinase yang berperan penting sebagai penghubung antara sinyal inflamasi dan jalur stres seluler.<sup>75</sup>

Aktivasi TAK1 menstimulasi dua lintasan utama yaitu jalur IKK/NF- $\kappa$ B dan jalur MAPK (p38, JNK, dan ERK).<sup>76</sup> Melalui fosforilasi kompleks IKK (I $\kappa$ B kinase), TAK1 menyebabkan degradasi I $\kappa$ B $\alpha$ , sehingga NF- $\kappa$ B dapat berpindah ke nukleus dan mengaktifkan ekspresi gen-gen proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-6.<sup>77</sup>

KGF juga mengalami penurunan ekspresi dan pelepasan pada jaringan luka dalam kondisi diabetes sehingga berkontribusi terhadap keterlambatan re-epitelisasi dan gangguan penyembuhan luka kronis. Studi klasik pada model tikus diabetes melaporkan bahwa induksi ekspresi KGF setelah terjadinya luka kulit jauh lebih rendah dan tertunda dibandingkan dengan tikus normal, sehingga memperlambat proses penutupan luka dan pembentukan epitel baru.<sup>78</sup>

Defisit KGF pada luka diabetik ditandai oleh penutupan luka yang lebih lambat, penurunan kecepatan re-epitelisasi, dan terbatasnya kontraksi luka.<sup>46,78</sup> Studi intervensi menunjukkan bahwa peningkatan kadar KGF dapat memperbaiki proses kontraksi dan

pembentukan epitel baru, menegaskan bahwa KGF berperan penting sebagai mediator transisi antara fase inflamasi dan proliferasi dalam proses penyembuhan luka.<sup>46</sup> Penelitian terbaru juga menunjukkan kadar *Fibroblast Growth Factor-2* (FGF-2) lebih rendah pada sel luka pasien diabetes, padahal FGF-2 berperan penting dalam mitosis fibroblas dan mempertahankan viabilitas sel.<sup>79</sup> Sel inflamasi mengalami apoptosis yang tertunda selama fase inflamasi penyembuhan luka pada hewan model diabetes.<sup>80</sup> Sementara itu pada fase proliferasi dan remodelling, apoptosis berlebihan dari sel-sel fungsional dalam kondisi hiperglikemia menyebabkan gangguan pembentukan jaringan granulasi dan memperlemah struktur jaringan, sehingga luka menjadi lebih rentan terhadap infeksi.<sup>81</sup> Luka diabetik juga mengalami makroangiopati, neuropati, serta gangguan mikrosirkulasi, yang melibatkan interaksi kompleks berbagai sel dan molekul, sehingga semakin menghambat proses penyembuhan luka (Gambar 2.3).<sup>48</sup>



**Gambar 2.3.** Mekanisme Gangguan Penyembuhan luka DM.<sup>48</sup>

### 2.3.3. Induksi Diabetes pada Tikus Wistar

Pemilihan tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan coba dalam penelitian ini didasarkan pada beberapa pertimbangan ilmiah dan praktis. Tikus Wistar merupakan salah satu galur tikus putih yang paling umum digunakan dalam penelitian biomedis karena memiliki karakter fisiologis, metabolik, dan endokrin yang stabil serta mudah diadaptasikan di laboratorium.<sup>82</sup>

Tikus Wistar memiliki respons yang konsisten terhadap induksi diabetes menggunakan kombinasi *streptozotocin* (STZ) dan *nicotinamide* (NA) yang menjadikannya model yang andal untuk meniru kondisi diabetes tipe 2 pada manusia.<sup>83</sup> Selain itu, tikus Wistar memiliki ukuran tubuh yang ideal, sehingga memudahkan dalam prosedur pembuatan luka dan pengambilan sampel jaringan.<sup>84</sup>

Induksi diabetes pada hewan coba umumnya dilakukan dengan menggunakan streptozotocin (STZ) karena senyawa ini bersifat toksik terhadap sel  $\beta$  pankreas sehingga menyebabkan kerusakan dan penurunan sekresi insulin yang berujung pada kondisi hiperglikemia kronis.<sup>85</sup> Namun, penggunaan STZ tunggal sering kali menghasilkan destruksi  $\beta$ -sel yang hampir total dan menimbulkan model diabetes tipe 1, sehingga kurang sesuai untuk merepresentasikan kondisi diabetes tipe 2 yang sering dikaitkan dengan resistensi insulin.<sup>86</sup> Untuk mengatasi keterbatasan tersebut, beberapa penelitian mengombinasikan *nicotinamide* (NA) dengan STZ untuk

menghasilkan model diabetes tipe 2 yang lebih fisiologis. Pemberian NA dosis 110–120 mg/kg diikuti STZ dosis 50–65 mg/kg intraperitoneal dilaporkan menimbulkan kerusakan  $\beta$ -sel parsial yang cukup untuk menciptakan hiperglikemia moderat dan resistensi insulin yang stabil.<sup>87</sup>

STZ masuk ke dalam sel B melalui transporter glukosa GLUT2 dan menyebabkan kerusakan DNA yang meningkatkan aktivitas poly(ADP-ribose) polymerase (PARP-1) untuk memperbaiki DNA. Namun, aktivitas berlebihan dari enzim ini menyebabkan berkurangnya NAD<sup>+</sup> dan ATP intraseluler, dan sel penghasil insulin mengalami nekrosis. NA bersifat protektif dengan menghambat aktivitas PARP-1 dan mencegah berkurangnya NAD<sup>+</sup> dan ATP dalam sel yang terpapar STZ sehingga kondisi diabetes yang dihasilkan menyerupai diabetes tipe 2 bukan diabetes tipe 1.<sup>88</sup>

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa model STZ + NA mampu meniru karakteristik diabetes tipe 2 dengan penurunan moderat sekresi insulin dan gangguan toleransi glukosa tanpa menyebabkan destruksi total sel  $\beta$  pankreas.<sup>83</sup> Metode ini juga diperkuat oleh penelitian lain yang menggunakan metode yang sama untuk menginduksi diabetes pada tikus Wistar dan menemukan peningkatan kadar glukosa darah yang stabil selama periode pengamatan 21 hari.<sup>89</sup>

Setelah kondisi hiperglikemia stabil, model luka diabetik umumnya dibuat dengan metode luka iris insisi dengan luas 2 cm<sup>2</sup> untuk menilai gangguan proses penyembuhan luka akibat diabetes.<sup>90</sup> Telah banyak penelitian sebelumnya yang menggunakan tikus diabetes yang diinduksi STZ sebelum pembuatan luka eksisi untuk mengevaluasi efek topikal ekstrak *Centella asiatica* terhadap penyembuhan luka.<sup>91</sup>

## 2.4. *Centella asiatica*

### 2.4.1. Definisi *Centella asiatica*

*Centella asiatica* adalah tanaman herbal yang berukuran kecil, tumbuh merambat dan dapat hidup menahun.<sup>92</sup> Tanaman ini masuk dalam divisi *Tracheophyta*, kelas *Magnoliopsida*, ordo *Apiales*, famili *Apiaceae*, genus *Centella* dan spesies *asiatica*.<sup>93</sup> *Centella asiatica* tersebar luas di negara-negara Asia Tenggara, seperti Malaysia dan Indonesia.<sup>12,92</sup>

Tanaman herbal ini telah digunakan untuk mengobati berbagai penyakit dalam pengobatan tradisional Asia selama ribuan tahun yang dikenal dengan nama Gotu kola, mandukparni, pennywort India, jalbrahmi dan pegagan Nyonya (Gambar 2.4).<sup>10</sup>

*Centella asiatica* mempercepat proses penyembuhan luka melalui stimulasi proliferasi fibroblast, peningkatan sintesis kolagen, anti inflamasi dan aktivitas antibakteri.<sup>94</sup>



**Gambar 2.4.** *Centella asiatica*.<sup>10</sup>

#### **2.4.2. Senyawa Bioaktif *Centella asiatica***

*Centella asiatica* mengandung spektrum luas fitonutrien yang memberikan berbagai efek menguntungkan. Secara umum, *Centella asiatica* mengandung banyak kelas dari fitonutrien seperti triterpen, karotenoid, glikosida, flavonoid, alkaloid, minyak volatil, dan minyak lemak.<sup>95</sup>

Senyawa bioaktif triterpena (sapogenin) meliputi asam asiatic, asam madecassic, asam terminolic, asam centic, asam centellinic, asam brahmic, asam isobrahmic, asam betulinic, dan asam madasiatic merupakan senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak *Centella asiatica*. Tanaman ini juga mengandung glikosida triterpena seperti asiaticoside A, asiaticoside B, madecassoside, centelloside, brahmoside, brahminoside, dan indocentelloside.<sup>95</sup>

Komponen utama yang diketahui berkontribusi terhadap aktivitas farmakologis *Centella asiatica* adalah asiaticoside (0,5–3,7%), asam asiatik (0,04–0,58%), madecassoside (0,29–6,09%), dan

asam madecassic (Gambar 2.6). Asiaticoside dan madecassoside lebih banyak terdapat di daun dan lebih sedikit di akar.<sup>95,96</sup>

Asiaticoside yang diisolasi dari *Centella asiatica* telah diteliti dan terbukti memiliki aktivitas penyembuhan luka, baik pada hewan normal maupun hewan dengan diabetes.<sup>97</sup> Madecassoside, bersama dengan sebagian besar triterpenoid lainnya juga menunjukkan peran penting dalam proses penyembuhan luka.<sup>98</sup>

Asam asiatic merupakan komponen paling poten dari *Centella asiatica* untuk menginduksi ekspresi TNFAIP6, suatu hialaderin yang terlibat dalam remodeling matriks ekstraseluler dan modulasi inflamasi, pada fibroblas manusia. Asam asiatic juga ditemukan dapat meningkatkan sintesis kolagen, yang penting dalam proses penyembuhan.<sup>92</sup>

Saponin triterpena merupakan metabolit sekunder dengan struktur aglikon triterpenoid yang bersifat hidrofobik dan terikat pada rantai gula hidrofilik (glikon), yang berperan penting dalam aktivitas biologisnya. Selain itu, tanaman ini juga mengandung senyawa lain, termasuk minyak lemak (gliserida asam palmitat, stearat, lignoserat, oleat, dan linoleat), tanin, fitosterol, vitamin, mineral, dan gula.<sup>96</sup>

Karotenoid merupakan salah satu fitonutrien penting yang terkandung dalam *Centella asiatica*. Senyawa ini merupakan pigmen alami tumbuhan yang sebagian dapat dikonversi menjadi vitamin A. Karotenoid memiliki aktivitas antioksidan kuat, sehingga berperan

dalam pencegahan berbagai penyakit degeneratif, termasuk kanker dan penyakit kardiovaskular, serta berkontribusi dalam meningkatkan respons imun terhadap infeksi. Beberapa morfotipe karotenoid yang teridentifikasi dalam *Centella asiatica* antara lain  $\beta$ -karoten, lutein, neoksantin, dan violaksantin, yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber provitamin A.<sup>95</sup>

*Centella asiatica* juga kaya akan flavonoid, yaitu kelompok senyawa yang berperan penting dalam memberikan efek antioksidan, antiinflamasi, neuroprotektif, dan vasoprotektif seperti quercetin, kaempferol dan luteolin.<sup>99</sup> *Centella asiatica* secara tradisional digunakan untuk mengobati berbagai kondisi dermatologis, termasuk luka, luka bakar, bekas luka, lupus, kusta, eksim, psoriasis, dan ulkus varises.<sup>96</sup> Efek terapeutik tersebut terutama berkaitan dengan kemampuannya mempercepat kontraksi luka melalui stimulasi sintesis fibronectin dan kolagen.<sup>100</sup>

#### **2.4.3. Peran *Centella asiatica* dalam Penyembuhan Luka Diabetes**

Luka diabetes merupakan salah satu komplikasi umum pada pasien diabetes yang sering berujung pada amputasi.<sup>63,64</sup> Banyak studi *in vitro* dan *in vivo* telah menunjukkan manfaat terapeutik dari *Centella asiatica*.<sup>101</sup> *Centella asiatica* menunjukkan berbagai sifat farmakologis, termasuk aktivitas neuroprotektif, penyembuhan luka, anti-inflamasi, antioksidan, antitumor, dan imunomodulator.<sup>96,101</sup>

Senyawa bioaktif utama dalam *Centella asiatica*, yaitu asiaticoside, madecassoside, asam asiatic, dan asam madecassic, memiliki peran penting dalam mempercepat penyembuhan luka diabetes yang biasanya terhambat akibat inflamasi kronis, stres oksidatif, dan gangguan angiogenesis.<sup>10</sup>

Asiaticoside terbukti meningkatkan sintesis kolagen tipe I melalui aktivasi jalur TGF- $\beta$ /Smad, sehingga memperkuat matriks ekstraseluler dan mempercepat penutupan luka pada kondisi diabetes.<sup>99</sup> Selain itu, asiaticoside juga menekan aktivasi NF- $\kappa$ B berlebih, sehingga mengurangi produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ , yang umumnya tinggi pada luka diabetik.<sup>24</sup>

Studi sebelumnya melaporkan bahwa asam asiatic dalam *Centella asiatica* memiliki efek analgesik dan antiinflamasi yang mekanismenya kemungkinan terkait dengan regulasi *Inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS) serta peningkatan aktivitas enzim antioksidan, termasuk katalase (CAT), Superoxide Dismutase (SOD), dan Glutathione Peroxidase (GPx).<sup>102</sup> Sifat anti inflamasi asam asiatic terutama diperantarai oleh penghambatan ekspresi dari iNOS, COX-2, IL-6, IL-1 $\beta$ , dan TNF- $\alpha$ , melalui penekanan aktivasi NF- $\kappa$ B karena berkurangnya fosforilasi I $\kappa$ B kinase (IKK) dan penghambatan jalur MAPK (p38, ERK1/2, dan JNK) pada sel RAW 264.7.<sup>103</sup> Asam asiatic juga dapat meningkatkan sintesis kolagen yang berperan penting dalam proses penyembuhan.<sup>92</sup> *Asiatic acid* juga memiliki efek

antiapoptosis dengan meningkatkan ekspresi Bcl-2 dan menekan aktivasi caspase, sehingga mempertahankan viabilitas fibroblas dan keratinosit yang penting dalam fase proliferasi.<sup>26</sup>

Kandungan madecassoside pada *Centella asiatica* terbukti berperan sebagai antioksidan dengan meningkatkan ekspresi enzim endogen seperti superoxide dismutase (SOD) dan katalase yang mampu menurunkan stres oksidatif akibat hiperglikemia.<sup>104</sup> Asam Madecassic juga berperan dalam penyembuhan luka diabetes melalui aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi. Asam Madecassic menurunkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan meningkatkan glutathione dan menjaga aktivitas enzim antioksidan seperti katalase dan glutathione reductase. Selain itu, asam Madecassic menekan ekspresi sitokin proinflamasi (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) melalui penghambatan jalur NF- $\kappa$ B, sehingga mengurangi inflamasi kronis yang biasanya menghambat fase proliferasi luka diabetes.<sup>105,106</sup> Pada fase proliferasi dan remodeling, asam Madecassic mendukung migrasi fibroblas, meningkatkan sintesis kolagen, serta menyeimbangkan aktivitas MMP yang penting untuk pembentukan jaringan granulasi matang dan re-epitelisasi yang lebih cepat.<sup>106</sup>

Flavonoid diketahui dapat menghambat ekspresi NF- $\kappa$ B serta menurunkan kadar mediator inflamasi, seperti Prostaglandin E2 (PGE2), Leukotrien B4 (LTB-4), Interleukin-1 (IL-1), Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Interleukin-6 (IL-6), dan Interferon- $\gamma$

(IFN- $\gamma$ ).<sup>13</sup> Di antara flavonoid tersebut, quercetin menempati posisi penting karena kemampuannya menetralkan spesies oksigen reaktif (ROS) serta mengatur mediator inflamasi utama, termasuk Cyclooxygenase-2 (COX-2) dan Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Kaempferol juga merupakan salah satu flavonoid utama dalam *Centella asiatica*, memiliki aktivitas antiinflamasi yang signifikan dengan cara menghambat jalur pensinyalan NF- $\kappa$ B serta mengaktifkan respons antioksidan yang dimediasi oleh Nrf2. Selain itu, flavonoid lain seperti apigenin, luteolin, dan hesperidin juga ditemukan dalam tanaman ini dan berkontribusi terhadap potensi terapeutiknya melalui aktivitas antipenuaan, ansiolitik, serta antimikroba.<sup>99</sup>

Suplementasi luteolin dilaporkan dapat menurunkan ekspresi protein proinflamasi yang signifikan, termasuk matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), TNF- $\alpha$ , IL-6, dan IL-1 $\beta$ . Selain itu, luteolin juga menekan aktivasi NF- $\kappa$ B sekaligus meningkatkan aktivitas enzim antioksidan, seperti superoksida dismutase-1 (SOD1) dan glutathione peroksidase (GSH-Px).<sup>107</sup>

Studi eksperimental pada model hewan dengan gangguan penyembuhan luka diabetes, menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Centella asiatica* secara topikal maupun oral dapat menekan infiltrasi neutrofil secara berlebihan dan menurunkan pelepasan mediator inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, dan IgE, serta menghambat

ekspresi iNOS, COX-2, NF- $\kappa$ B, dan aktivitas enzim lipoxigenase (LOX) di area jaringan kulit yang mengalami kerusakan (Gambar 2.6).<sup>11,12,92</sup>

Berbagai studi in vivo telah melaporkan bahwa ekstrak *Centella asiatica* dan asam asiatic meningkatkan proliferasi fibroblast, sintesis kolagen, dan angiogenesis. Pada fase perbaikan jaringan luka, triterpena dari *centella asiatica* menstimulasi TGF-1, merangsang pertambahan jumlah fibroblas dan mensekresikan *Extracellular Matrix* (ECM), terutama kolagen tipe I dan tipe III, serta sebagian berdiferensiasi menjadi miofibroblas, yang akan berkontribusi untuk mempercepat kontaksi dan penutupan luka (Gambar 2.5).<sup>92</sup> Ekstrak standar dari *Centella asiatica* juga merangsang pembentukan filopodia dan mempercepat regenerasi jaringan luka melalui aktivasi jalur pensinyalan FAK, Akt, dan MAPK. Kandungan triterpenoid dalam tanaman ini turut berperan dalam meningkatkan re-epitelialisasi, memperkuat sintesis kolagen, serta menekan respons inflamasi lokal tanpa menimbulkan iritasi pada kulit.<sup>14</sup>

Penggunaan formulasi hidrogel yang diperkaya dengan asiaticoside terbukti mampu mempercepat penyembuhan luka hingga 40% lebih cepat dibandingkan kelompok plasebo.<sup>108</sup> Penggunaan gel *Centella asiatica* dengan konsentrasi 3%, 5% dan 7% menunjukkan potensi yang menjanjikan sebagai agen terapi topikal dalam mempercepat penyembuhan luka pada kondisi diabetes.<sup>23</sup> Selain itu

**Gambar 2.5.** Peran Senyawa Bioaktif *Centella asiatica*.<sup>92</sup>

## 2.5. *Channa Striata*

*Channa striata* (ikan gabus) merupakan ikan air tawar yang tersebar luas dan mudah dijumpai di berbagai negara Asia, termasuk Indonesia.<sup>109</sup> Ikan ini memiliki kandungan protein tinggi (Gambar 2.6).<sup>15,26</sup>

32



**Gambar 2.6.** *Channa Striata* <sup>19</sup>

### 2.5.2. Kandungan Bioaktif *Channa Striata*

*Channa striata* merupakan salah satu sumber pangan yang secara tradisional digunakan untuk mempercepat pemulihan luka dan meningkatkan kesehatan. Sejumlah penelitian modern telah membuktikan bahwa manfaat tersebut berkaitan erat dengan kandungan bioaktif yang dimilikinya.<sup>15</sup>

Komponen utama dalam ekstrak *Channa striata* adalah protein dan peptida bioaktif, termasuk albumin. Analisis proteomik menunjukkan adanya sejumlah protein yang berperan dalam stimulasi proliferasi sel dan angiogenesis, yang secara langsung mendukung proses penyembuhan luka.<sup>26</sup> Studi klinis pada pasien pasca operasi, termasuk ibu pasca sectio caesarea, membuktikan bahwa pemberian ekstrak *Channa striata* dapat menurunkan nyeri, memperbaiki penyembuhan luka, serta meningkatkan luaran kosmetik luka.<sup>111,112</sup> Analisis kandungan ekstrak *Channa striata* murni (100%) menunjukkan adanya albumin sebesar 7,568 mg/L, seng (Zn) 6,70 mg/L, zat besi (Fe) 0,72 mg/L, dan tembaga (Cu) 0,447 mg/L.<sup>16</sup> Zink berperan dalam pertumbuhan dan replikasi sel serta berperan dalam

respon imun sel. Mineral tembaga yang terkandung di dalam ekstrak haruan berfungsi meningkatkan *vascular endothelial growth factor* (VEGF) sehingga meningkatkan angiogenesis.<sup>113</sup> Cu dan Zn dapat berperan mengikat dan mengoptimalkan fungsi enzim SOD sehingga dapat mengurangi inflamasi. Fe berperan dalam pembentukan kolagen, dan dalam pengiriman oksigen serta sintesis kolagen dalam proses penyembuhan luka.<sup>16</sup>

*Channa striata* juga kaya akan asam amino seperti arginin, glisin, dan glutamin yang berperan penting dalam mendukung proses penyembuhan luka melalui beberapa mekanisme.<sup>20</sup> Asam amino tersebut berfungsi penting dalam sintesis kolagen, pembentukan proteoglikan, serta remodeling jaringan, yang merupakan tahap krusial dalam penyembuhan luka.<sup>114</sup>

Kandungan lain yang tidak kalah penting adalah asam lemak tak jenuh ganda (polyunsaturated fatty acids/PUFA). Profil lipid *Channa striata* mengandung docosahexaenoic acid (DHA), eicosapentaenoic acid (EPA), dan arachidonic acid (AA). PUFA tersebut memiliki aktivitas antiinflamasi melalui modulasi jalur transduksi sinyal, termasuk NF- $\kappa$ B dan PPAR $\gamma$ , sehingga mampu menekan produksi sitokin proinflamasi dan mempercepat resolusi inflamasi.<sup>19</sup> Kandungan omega-3 dalam tubuh *Channa striata* dilaporkan mencapai 5,6% pada ikan budidaya dan 9,0% pada ikan liar.<sup>114</sup>

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak *Channa striata* juga memiliki aktivitas antimikroba. Hasil uji in vitro memperlihatkan bahwa ekstrak ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen, sekaligus memicu proliferasi sel, sehingga memberikan kontribusi tambahan terhadap percepatan penyembuhan luka.<sup>19</sup> Kombinasi albumin, peptida bioaktif, asam amino, PUFA, dan mineral menjadikan *Channa striata* sebagai sumber bioaktif yang potensial dalam aplikasi klinis, khususnya dalam mendukung penyembuhan luka, modulasi inflamasi, serta perbaikan status nutrisi pasien.<sup>26,111,112,114</sup>

### 2.5.3. Peran *Channa striata* dalam Penyembuhan Luka Diabetes

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak *Channa striata* memiliki efek anti-inflamasi dan antioksidan yang menguntungkan dalam proses penyembuhan luka.<sup>26</sup> Kandungan asam amino pada *Channa striata*, terutama arginin, glisin, dan glutamin, berperan penting dalam mendukung proses penyembuhan luka melalui beberapa mekanisme.<sup>20</sup> Arginin berfungsi sebagai prekursor *Nitric Oxide* (NO) yang dapat merangsang produksi transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) oleh sel inflamasi dan fibroblas, sehingga mempercepat pembentukan jaringan baru.<sup>115</sup> Glisin merupakan asam amino utama yang dibutuhkan untuk sintesis kolagen, protein struktural penting dalam pembentukan matriks ekstraseluler.<sup>116</sup> Selain itu, glutamin berperan sebagai sumber energi bagi sel imun dan

fibroblas, serta mendukung fase inflamasi dan proliferasi dalam penyembuhan luka.<sup>117</sup> Pada kondisi peradangan kronis seperti pada luka diabetes, produksi TGF- $\beta$ 1 sering kali menurun, tetapi efek antiinflamasi dan antioksidan dari ekstrak *Channa striata* membantu mengurangi stres oksidatif dan meningkatkan ekspresi TGF- $\beta$ 1 secara optimal.<sup>26,118</sup>

*Channa striata* juga memiliki kandungan omega-3 dan omega-6 yang diketahui mampu menghambat aktivasi TLR-4 beserta kaskade hilirnya, termasuk NF- $\kappa$ B, sehingga menurunkan produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ .<sup>17,18</sup> Lebih lanjut, omega-3 dapat menekan sitokin proinflamasi melalui aktivasi PPAR $\gamma$ , yang menghambat degradasi I $\kappa$ B dan pada akhirnya mencegah translokasi NF- $\kappa$ B ke dalam inti sel. *Polyunsaturated Fatty Acids* (PUFA), seperti asam alfa-linolenat (ALA), asam dokosaheksaenoat (DHA), dan asam eikosapentaenoat (EPA), juga terbukti berperan dalam menurunkan aktivitas NF- $\kappa$ B pada kondisi peradangan.<sup>17</sup> Kandungan mineral *Channa striata* seperti zinc (Zn), besi (Fe), dan tembaga (Cu) juga turut berperan dalam proses penyembuhan luka. Zinc berfungsi sebagai kofaktor *matrix metalloproteinases* (MMPs) yang diperlukan untuk degradasi jaringan lama, sementara tembaga berperan dalam aktivitas enzim lisil oksidase yang mengatur *cross-linking* kolagen sehingga meningkatkan kekuatan tarik luka.<sup>112</sup>

Hipoproteinemia umumnya ditemukan pada pasien pasca operasi, ibu pasca persalinan, maupun penderita dengan luka berat.<sup>119</sup> Peningkatan kadar serum albumin pada pasien tersebut dapat dicapai melalui konsumsi makanan bergizi dengan kandungan protein tinggi. Kekurangan nutrisi akan menghambat proses fisiologis normal yang diperlukan untuk kemajuan setiap tahap penyembuhan luka.<sup>120</sup> Malnutrisi berdampak negatif terhadap penyembuhan luka dengan memperpanjang fase inflamasi serta mengganggu fase proliferasi.<sup>121</sup> *Channa striata* banyak mengandung albumin. Albumin berfungsi sebagai sumber utama dalam pembentukan jaringan baru karena tubuh akan memecah albumin menjadi asam amino yang diperlukan dalam proses katabolik. Albumin juga berperan sebagai transporter nutrisi dan oksigen yang dibutuhkan sel untuk regenerasi jaringan selama tahap proliferasi. Selama fase inflamasi, albumin membantu menjaga tekanan osmotik antara cairan intraseluler dan ekstraseluler.<sup>122</sup>

Penyembuhan luka yang optimal membutuhkan kecukupan nutrisi, terutama protein yang berperan penting dalam pembentukan kapiler, proliferasi fibroblas, sintesis proteoglikan, sintesis kolagen, dan proses remodeling luka.<sup>123</sup> Kekurangan protein akibat malnutrisi energi-protein dapat menyebabkan penurunan kekuatan tarik jaringan, melemahkan imunitas yang dimediasi sel, menurunkan aktivitas fagositik, serta menurunkan kadar antibodi dan komplemen.<sup>124</sup> Oleh

karena itu, peningkatan asupan protein menjadi faktor krusial dalam mengoptimalkan penyembuhan luka sekaligus memperkuat fungsi imun.

## **2.6. Pengaruh Kombinasi Gel *Centella Asiatica* Dan *Channa Striata* Oral Terhadap Ekspresi NF- $\kappa$ B (P65) dan KGF**

Aplikasi topikal *Centella asiatica* terutama triterpenoid seperti asiaticoside, madecassoside, *asiatic acid* dan *Madecassic acid* dapat menekan aktivasi jalur NF- $\kappa$ B dengan menghambat fosforilasi I $\kappa$ B $\alpha$  dan mencegah translokasi subunit p65 ke inti, sehingga menurunkan produksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 dan ROS (Gambar 2.7).<sup>33,92,96,125</sup>

Efek anti-inflamasi dan antioksidan senyawa bioaktif asiaticoside, madecassoside, asam asiatic dan asam medecassic menciptakan lingkungan mikro luka yang kondusif bagi proliferasi fibroblas, sintesis kolagen dan sekresi faktor pertumbuhan parakrin termasuk faktor pertumbuhan keratinosit, yaitu KGF, sehingga mempercepat reepitelialisasi dan perbaikan jaringan (Gambar 2.9).<sup>92,96,126</sup> Triterpen juga mengaktifkan jalur antioksidan Nrf2 dan jalur proregeneratif (PI3K/Akt, MAPK) yang mendukung migrasi dan kelangsungan hidup sel epitelial dan fibroblas.<sup>33</sup>

Penggunaan formulasi hidrogel yang diperkaya dengan asiaticoside terbukti mampu mempercepat penyembuhan luka hingga 40% lebih cepat dibandingkan kelompok plasebo.<sup>108</sup> Selain itu, penggunaan gel *Centella asiatica* dengan konsentrasi 3%, 5% dan 7% menunjukkan potensi yang

menjanjikan sebagai agen terapi topikal dalam mempercepat penyembuhan luka pada kondisi diabetes.<sup>23</sup>

Konsumsi oral atau suplementasi *Channa striata* menyediakan protein berkualitas tinggi, albumin, asam amino seperti arginin, glisin, PUFA, omega-3 dan omega-6 yang secara sistemik menekan respons inflamasi dengan menurunkan TNF- $\alpha$ /IL-6, meningkatkan faktor pertumbuhan penyembuhan seperti TGF- $\beta$ 1 dan mendukung angiogenesis. Proses ini secara tidak langsung menurunkan aktivitas kronis NF- $\kappa$ B pada jaringan luka dan merangsang sekresi dan/atau aksi KGF oleh sel-sel mesenkimal, sehingga memperbaiki proses proliferasi dan re-epitelialisasi.<sup>15,26,112</sup> Temuan ini sejalan dengan penelitian eksperimental pada hewan coba yang menyatakan bahwa pemberian *Channa striata* oral 100 mg/100 g BB setiap hari selama 7 hari dapat meningkatkan *tensile strength*, fibroblas dan hidroksiprolin sehingga mempercepat penyembuhan luka.<sup>27</sup>

Kombinasi *Centella asiatica* dan *Channa striata* menawarkan potensi terapeutik yang menjanjikan. *Centella asiatica* dan *Channa striata* bekerja melalui mekanisme berbeda namun saling melengkapi dalam mengendalikan inflamasi, merangsang faktor pertumbuhan, dan mendukung proses regenerasi jaringan pada penyembuhan luka, khususnya luka pada diabetes.

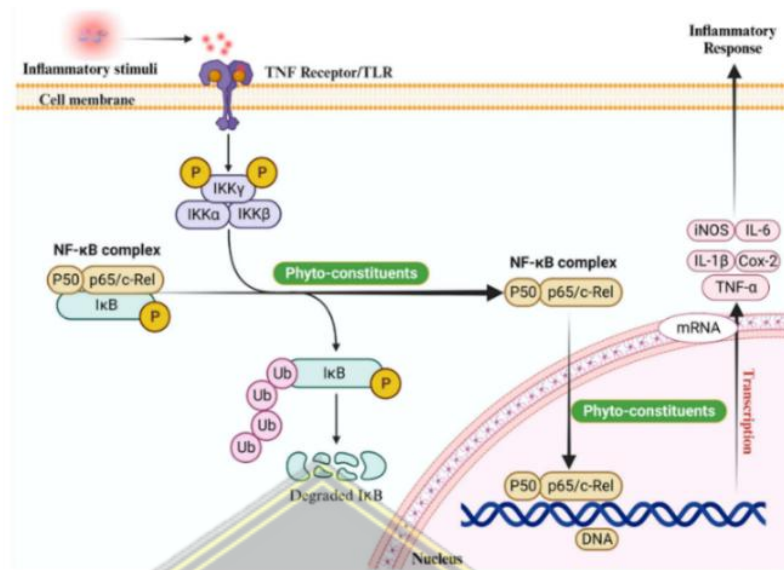
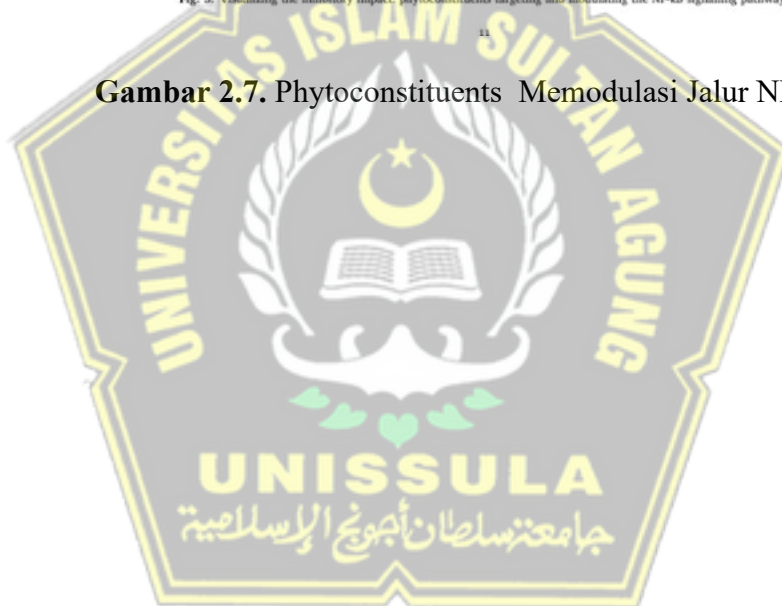


Fig. 3. Visualizing the inhibitory impact: phytoconstituents targeting and modulating the NF-κB signalling pathway.

Gambar 2.7. Phytoconstituents Memodulasi Jalur NF-κB.<sup>33</sup>



## BAB III

### KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

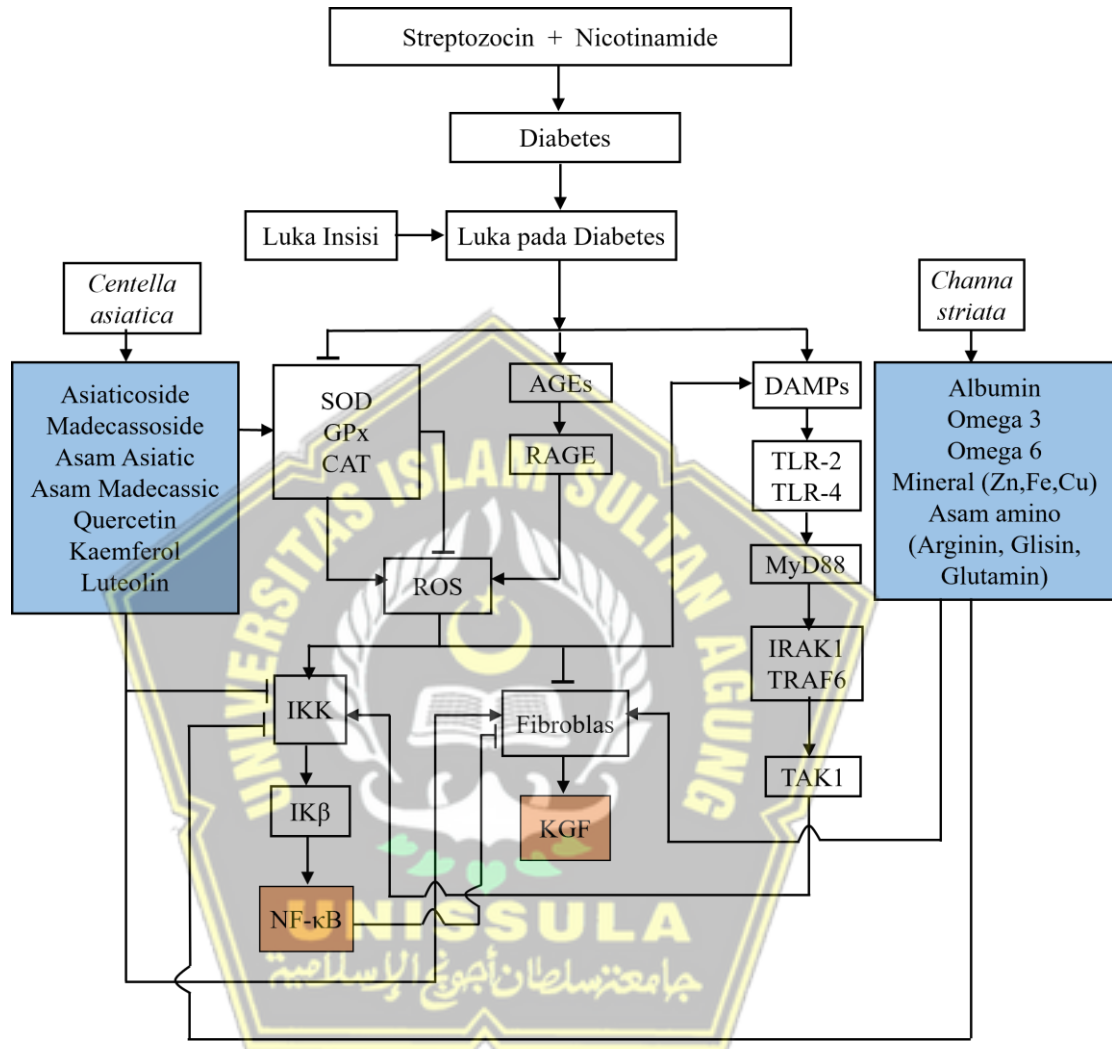
#### 3.1. Kerangka Teori

Hiperglikemia menyebabkan peningkatan pembentukan ROS, AGEs dan DAMPs yang meningkatkan aktivasi NF- $\kappa$ B.<sup>74,75,127</sup> Setelah diaktifkan, subunit p65 NF- $\kappa$ B berpindah ke inti sel dan menstimulasi transkripsi berbagai gen proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-6, yang berperan penting dalam mempertahankan kondisi inflamasi kronis pada luka diabetik.<sup>128</sup> Inflamasi kronis yang berkepanjangan mengganggu keseimbangan antara produksi sitokin proinflamasi dan faktor pertumbuhan yang diperlukan untuk fase proliferasi dan regenerasi jaringan.<sup>42</sup> Aktivitas fibroblas, angiogenesis, dan re-epitelisasi mengalami penurunan yang signifikan.<sup>129,130</sup> Salah satu faktor pertumbuhan yang sangat terpengaruh adalah KGF yang normalnya disekresikan oleh fibroblas dermal untuk menstimulasi proliferasi dan migrasi keratinosit pada tepi luka.<sup>131</sup> KGF berfungsi sebagai modulator dalam jalur TGF- $\beta$ 1/Smad. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa KGF dapat meningkatkan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada keratinosit, yang selanjutnya mengaktifkan jalur Smad pada fibroblas. Aktivasi ini meningkatkan ekspresi kolagen tipe I (Col-I),  $\alpha$ -SMA (*alpha-smooth muscle actin*), dan p-Smad2/p-Smad3, yang berkontribusi pada diferensiasi fibroblas menjadi myofibroblas dan mempercepat kontraksi luka.<sup>46</sup>

Aplikasi topikal *Centella asiatica* terutama triterpenoid seperti asiaticoside, madecassoside, asam asiatic dan asam madecassic dapat menekan aktivasi jalur NF- $\kappa$ B dengan menghambat fosforilasi I $\kappa$ B $\alpha$  dan mencegah translokasi subunit p65 ke inti, sehingga menurunkan produksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 dan ROS.<sup>92,96,125</sup> Efek terapeutik *Centella asiatica* juga dikaitkan dengan stimulasi sintesis kolagen tipe I, proliferasi fibroblast, dan upregulasi faktor angiogenik, termasuk FGF dan VEGF. Fibroblas kulit dapat mensekresikan faktor pertumbuhan seperti KGF dan *Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor* (GM-CSF) yang mendorong proliferasi, migrasi, dan diferensiasi keratinosit. Proses-proses ini secara kolektif mendukung regenerasi jaringan dan remodeling epidermal.<sup>99</sup> Konsumsi oral atau suplementasi *Channa striata* menyediakan protein berkualitas tinggi, albumin, asam amino seperti arginin, glisin dan juga PUFA yang secara sistemik menekan respons inflamasi dengan menurunkan TNF- $\alpha$ /IL-6, meningkatkan faktor pertumbuhan penyembuhan seperti TGF- $\beta$ 1 dan mendukung angiogenesis. Proses ini secara tidak langsung menurunkan aktivitas kronis NF- $\kappa$ B pada jaringan luka dan merangsang sekresi KGF-1 oleh sel-sel mesenkimal, sehingga memperbaiki proses proliferasi dan re-epitelialisasi.<sup>15,26,112</sup>

Kombinasi *Centella asiatica* dan *Channa striata* menawarkan potensi terapeutik yang menjanjikan. *Centella asiatica* dan *Channa striata* bekerja melalui mekanisme berbeda namun saling melengkapi dalam mengendalikan inflamasi, merangsang faktor pertumbuhan, dan mendukung proses

regenerasi jaringan pada penyembuhan luka, khususnya luka diabetes dengan kadar NF- $\kappa$ B yang lebih rendah dan kadar KGF yang lebih tinggi.



### Gambar 3.1. Kerangka Teori

Keterangan:

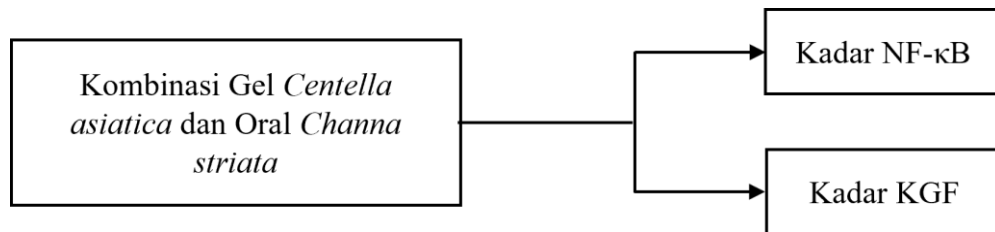
**□ : Variabel bebas**

 : Variabel terikat

**⊣ : Inhibisi**

→ : Aktivasi

### 3.2. Kerangka Konsep



**Gambar 3.2.** Kerangka Konsep

### 3.3. Hipotesis

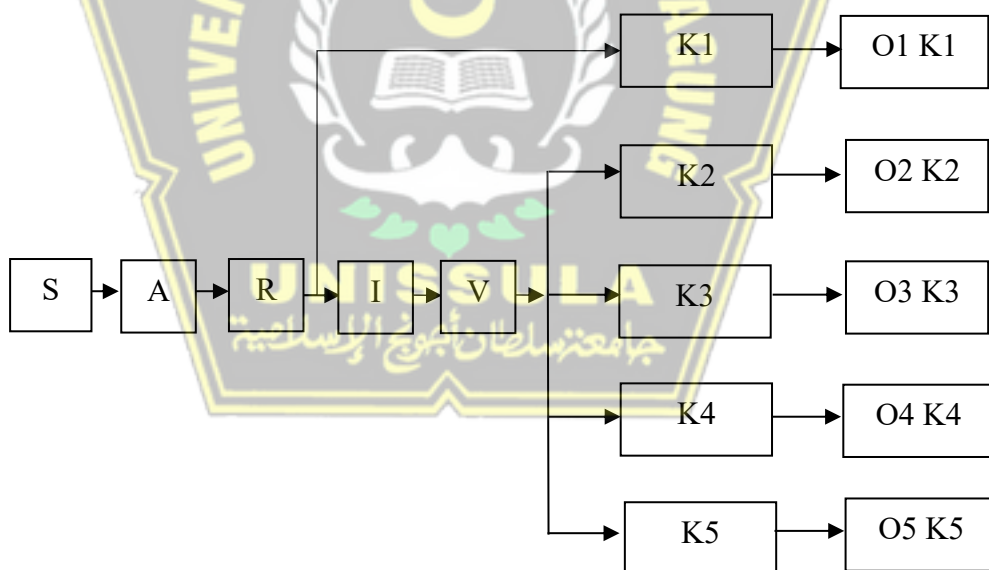
Terdapat pengaruh pemberian kombinasi gel *Centella asiatica* dan oral *Channa striata* terhadap kadar NF-κB dan KGF pada tikus jantan galur Wistar model luka insisi pada diabetes yang diinduksi Streptozotocin dan Nicotinamide.

## 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, 1 kelompok luka insisi non-DM yang tidak mendapatkan perlakuan, 1 kelompok luka insisi DM yang tidak mendapatkan perlakuan dan 3 kelompok luka insisi DM yang mendapatkan perlakuan. Pengukuran data dilakukan setelah intervensi.



**Gambar 4.1.** Skema Rancangan Penelitian

**Keterangan:**

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

**Perlakuan :**

- K1** : Tikus model luka insisi non-DM dengan pemberian topikal base gel dan oral akuades  
**K2** : Tikus model luka insisi diabetes dengan pemberian topikal base gel dan oral akuades  
**K3** : Tikus model luka insisi diabetes dengan pemberian topikal gel *Centella asiatica* 10% dan oral akuades  
**K4** : Tikus model luka insisi diabetes dengan pemberian topikal base gel dan *Channa striata* oral 2 cc (100mg/100g BB)  
**K5** : Tikus model luka insisi diabetes dengan pemberian kombinasi gel *Centella asiatica* 10% dan *Channa striata* oral 2 cc (100mg/100g BB) dengan rasio kombinasi 1:1  
**O** : Observasi

**4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional**

**4.2.1. Variabel Penelitian**

4.2.1.1. Variabel bebas

Gel *Centella Asiatica* 10% yang diberikan secara topikal dan ekstrak *Chana Striata* 2 cc (100 mg/100 g BB) yang di berikan secara oral

4.2.1.2. Variabel Terikat

Kadar NF- $\kappa$ B dalam darah dan kadar KGF pada jaringan tikus model luka diabetes.

4.2.1.3 Variabel Prekondisi

Tikus Galur Wistar dengan luka insisi diabetes yang diinduksi dengan STZ+NA

## 4.2.2. Definisi Operasional

### 4.2.2.1. Kadar NF- $\kappa$ B

Kadar NF- $\kappa$ B didefinisikan sebagai konsentrasi subunit p65 dari kompleks NF- $\kappa$ B dalam serum darah hewan coba dengan metode ELISA pada panjang gelombang 450 nm (koreksi 570/630 nm) yang diperiksa pada hari ke-8 penelitian.

Unit : ng/mL

Skala : Rasio

### 4.2.2.2. Kadar KGF

Konsentrasi protein KGF/FGF7 yang terdapat pada jaringan luka insisi tikus Wistar jantan model diabetes yang diukur dengan ELISA pada panjang gelombang 450 nm pada hari ke-8 penelitian.

Unit : ng/L

Skala : Rasio

### 4.2.2.3. Gel Ekstrak *Centella asiatica*

Gel Ekstrak *Centella asiatica* adalah sediaan obat luar berbasis gel yang dibuat menggunakan bahan dasar simplisia *Centella asiatica* 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 : %

Skala : Nominal

#### 4.2.2.4. Ekstrak Oral *Chana striata*

Ekstrak *Channa Striata* didefinisikan sebagai ekstrak ikan gabus yang berasal dari sediaan kapsul komersial DRE Ecobumin (No. Reg: POM TR. 253001171, diproduksi oleh CV Bina Syifa Mandiri). Setiap kapsul mengandung 500 mg ekstrak *Channa striata*. 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/kgbb

Skala : Nominal

### 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 200-250 g yang dinyatakan sehat dan layak digunakan untuk penelitian. Tikus terlebih dahulu

diinduksi diabetes menggunakan *streptozotocin* (STZ) dan *Nicotinamide* (NA) untuk menghasilkan model luka diabetes, kemudian dilakukan pembuatan luka insisi pada daerah dorsalnya. Selanjutnya, tikus diberikan perlakuan berupa aplikasi gel *Centella asiatica* 10% pada area luka, serta pemberian ekstrak oral *Channa striata* sesuai dosis yang telah ditentukan, guna mengevaluasi pengaruh kombinasi terapi terhadap kadar NF-kB dan KGF selama proses penyembuhan luka.

#### 4.3.2. Sample 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 200-250 g
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 :

Tikus pada kelompok perlakuan diabetes yang tidak mencapai kondisi hiperglikemia setelah induksi STZ+NA (glukosa darah <200 mg/dL).

##### 4.3.2.3. Kriteria *Drop out*

Tikus mati selama penelitian

#### 4.4. Cara Penentuan Sampel Penelitian

#### 4.4.1. Besar Sample

Pengambilan sampel pada penelitian ini dengan menggunakan cara *Randomized Sampling*. Tikus jantan Galur Wistar dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok K1 (tikus model luka insisi non-DM dengan pemberian topikal base gel dan oral akuades), K2 (tikus model luka insisi DM dengan pemberian topikal base gel dan oral akuades) K3 (tikus model luka insisi diabetes dengan pemberian topikal gel *Centella asiatica* 10% dan akuades 2 ml.), K4 (tikus model luka luka insisi diabetes dengan pemberian topikal base gel dan oral *Channa striata* 2cc 100 mg/100 g berat badan) K5 (Tikus model luka insisi diabetes dengan kombinasi topikal gel *Centella asiatica* 10% dan *Channa striata* oral 2 ml 100mg/100gr berat badan dengan rasio kombinasi 1:1).

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 :

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

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$n \geq 5$  dengan pembulatan

Dengan mempertimbangkan hasil perhitungan sampel per perlakuan sebesar lima ekor, penambahan 10% hewan coba ditambahkan untuk mengantisipasi mortalitas selama penelitian, sehingga jumlah sampel subyek penelitian ditambahkan satu ekor tikus per kelompok. Dengan demikian, total tikus galur Wistar jantan yang digunakan adalah 30 ekor.

#### **4.5. Alat dan Bahan**

##### **4.5.1. 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 *Channa striata* dan spatula aplikator untuk pemberian gel *Centella asiatica*. Alat yang digunakan untuk pengumpulan data meliputi tabung eppendorf 1,5 mL, pot sampel jaringan, serta Elisa Kit untuk pembacaan ELISA kadar NFkB dan KGF.

##### **4.5.2. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan untuk perlakuan seperti streptozotocin, nicotinamide, ekstrak *centella*

*asiatica* basis gel, Ekstrak *chana striata*, ketamin, xylazine, etanol, akuades, pakan tikus, ELISA kit CAT.

#### **4.6. Cara Penelitian**

##### **4.6.1. Perolehan *Ethical Clearance***

Penelitian ini telah memperoleh persetujuan etik dari Komisi Bioetik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang dengan nomor 670/XII/2025/Komisi Bioetik (Lampiran 2).

##### **4.6.2. Pembuatan Ekstrak *Centella Asiatica***

Tanaman *Centella asiatica* 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 *Centella asiatica*, 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 (simplisia). Proses pengeringan ini bertujuan untuk mencegah pertumbuhan jamur dan menjaga stabilitas senyawa dalam daun. Simplisia *Centella asiatica* 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 *Centella asiatica* 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 *Centella asiatica*. 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 *Centella asiatica* dalam bentuk serbuk/kering. Ekstrak *Centella asiatica* yang diperoleh kemudian disimpan dalam wadah kedap udara, terlindung dari cahaya, dan diletakkan di lemari pendingin untuk menjaga stabilitas kualitasnya sebelum diformulasikan menjadi gel.

#### **4.6.3. Pembuatan Ekstrak Gel *Centella Asiatica***

Carbopol dilarutkan ke dalam 30 ml air, kemudian dipanaskan hingga suhu 70°C dan diaduk sampai mengembang serta membentuk gel. Campuran didiamkan selama 24 jam untuk memperoleh karbopol yang larut sempurna. Metil paraben dilarutkan dalam propilen glikol dan diaduk hingga homogen, kemudian campuran tersebut

dimasukkan ke dalam basis gel dan diaduk kembali sampai homogen. Setelah basis gel siap, ekstrak daun pegagan ditambahkan sesuai dengan konsentrasi variabel penelitian ke dalam larutan gel. Campuran diaduk menggunakan pengaduk magnetik hingga ekstrak terdispersi secara homogen dalam basis gel. Pengadukan dilakukan secara perlahan dan merata untuk mencegah pembentukan gelembung udara. Gel yang telah terbentuk kemudian dikemas ke dalam wadah bersih dan steril serta disimpan di tempat sejuk dan kering untuk menjaga kualitas dan efektivitasnya.

#### **4.6.4. Pembuatan Sediaan Oral dari Kapsul *Chana Striata***

Ekstrak CS 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 standar dipilih untuk meminimalisir variasi kandungan bahan aktif antar sampel dan menjamin reproduktibilitas penelitian.

Setiap kapsul DRE Ecobumin mengandung 500 mg ekstrak murni CS. 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 CS dibuat baru setiap hari (*freshly prepared*) sesaat sebelum

pemberian perlakuan untuk menjaga stabilitas kandungan protein (albumin) dan mencegah kontaminasi bakteri.

#### 4.6.5. Metode Pembuatan Model Luka Diabetik

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 200-250 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  $\geq 200$  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  $\pm 2$  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 dengan dosis 10%. 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.

#### **4.6.6. Metode Pembacaan ELISA untuk NFkB dan KGF**

##### **4.6.6.1. Persiapan Sample**

Sampel serum untuk pemeriksaann NF-kB 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 celcius. Supernatan (serum) yang telah terpisah diambil dan segera disimpan pada suhu 20 derajat celcius hingga siap untuk dianalisis lebih lanjut menggunakan ELISA.

Jaringan dari luka insisi diambil sebagai sampel jaringan untuk pemeriksaan kadar KGF. 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.

#### 4.6.6.2. Prosedur ELISA

Sebelum pengerjaan, semua reagen dan sampel diadaptasi pada suhu ruang selama  $\pm 30$  menit. Prosedur dilanjutkan dengan menyiapkan mikrotiter plate yang telah dilapisi dengan antibodi spesifik untuk NF $\kappa$ B atau KGF, sesuai petunjuk kit komersial. Sebanyak 50–100  $\mu\text{L}$  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  $\pm 15$  menit hingga terjadi perkembangan warna. Reaksi kemudian dihentikan dengan penambahan stop solution (Asam Sulfat 2N).

#### 4.6.6.3. Pembacaan Hasil

Pembacaan hasil dilakukan sesuai protokol *kit sandwich ELISA* komersial yang spesifik terhadap target molekul (NF- $\kappa$ B p65 dan KGF/FGF7). Sebanyak 100  $\mu$ L standar, kontrol, dan sampel dimasukkan ke dalam *well* pelat mikro yang telah dilapisi antibodi spesifik terhadap antigen target dan diinkubasi pada suhu kamar untuk memungkinkan pengikatan antigen-antibodi. Setelah tahap pencucian, ditambahkan *enzyme-linked detection antibody* yang bereaksi dengan substrat kromogenik tetramethylbenzidine (TMB). Reaksi enzimatik menghasilkan perubahan warna dari bening menjadi biru, yang kemudian dihentikan dengan larutan penghenti (stop solution) berwarna kuning. Intensitas warna diukur menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 450 nm (dengan koreksi 570 nm atau 620 nm bila tersedia) untuk memperoleh nilai optical density (OD) setiap

sampel. Nilai OD sampel dibandingkan dengan kurva standar (standard curve) yang diperoleh dari seri pengenceran standar yang diketahui konsentrasinya. Dengan menggunakan perangkat lunak bawaan pembaca ELISA atau program pengolah data seperti GraphPad Prism atau Excel, kurva standar dibuat dengan metode *four-parameter logistic* (4-PL) untuk menentukan konsentrasi protein target pada setiap sampel. Hasil akhir kadar NF- $\kappa$ B dinyatakan dalam satuan ng/mL plasma, sedangkan kadar KGF dinyatakan dalam ng/L jaringan basah. Semua data dinormalisasi terhadap kadar protein total untuk mengurangi variasi antar sampel biologis. Nilai rerata antar kelompok perlakuan dibandingkan secara statistik menggunakan uji ANOVA atau *Kruskal – wallis* sesuai rancangan penelitian.

#### 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. Jika data berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ) dan homogen ( $p > 0,05$ ), maka analisis dilanjutkan dengan uji One Way ANOVA. Jika ditemukan perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ), maka dilakukan uji Post Hoc LSD untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Jika data berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ) tetapi

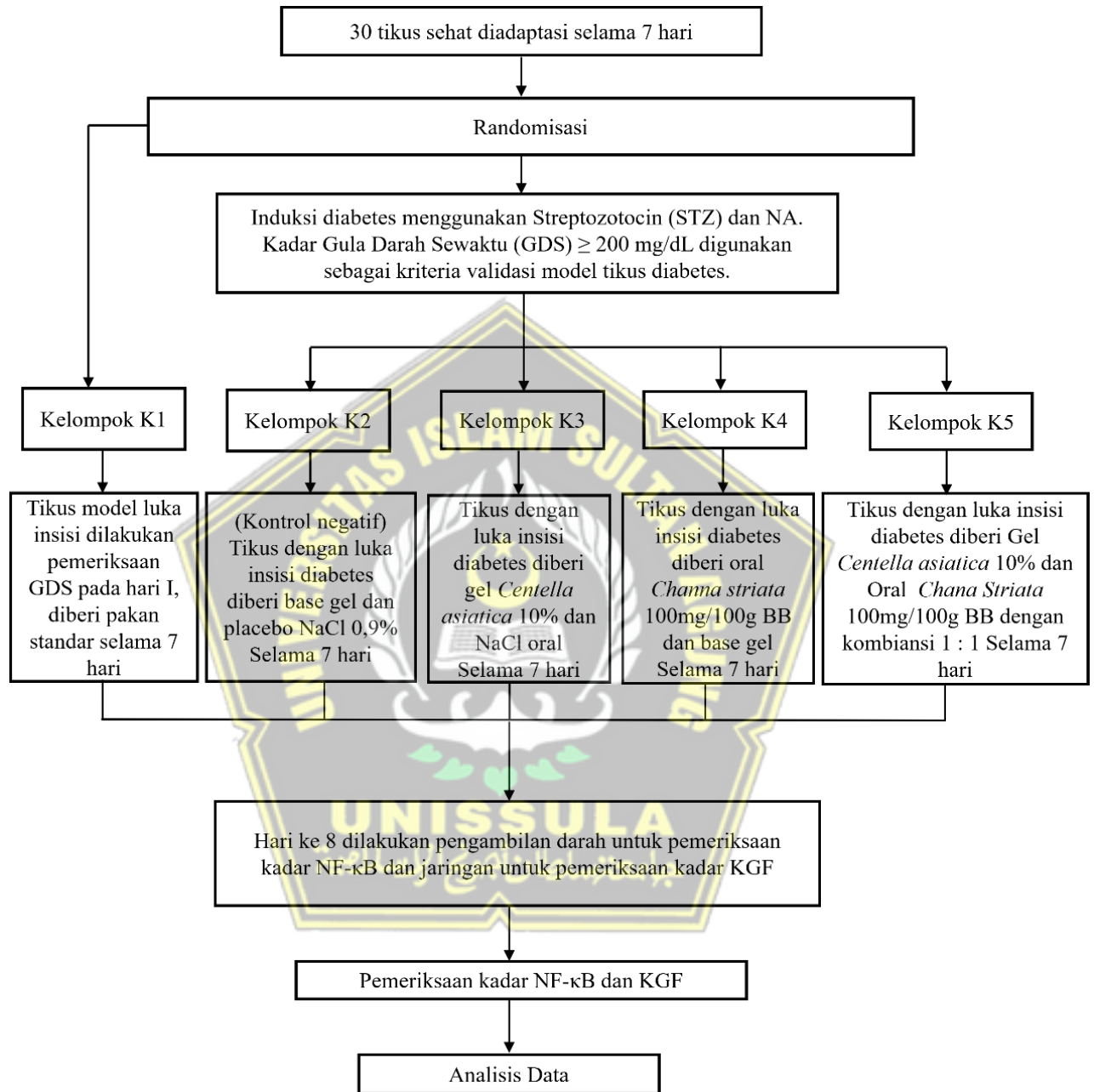
tidak homogen ( $p < 0,05$ ), analisis tetap menggunakan One Way ANOVA dengan uji Post Hoc Tamhane sebagai uji lanjut. Sementara itu, jika data tidak berdistribusi normal ( $p < 0,05$ ), maka digunakan uji Kruskal-Wallis, dan jika terdapat perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ ) analisis dilanjutkan dengan uji Mann Whitney U untuk melihat perbedaan antar kelompok penelitian. Batas kemaknaan yang digunakan pada seluruh analisis adalah  $p < 0,05$ , dan pengolahan data dilakukan dengan program SPSS versi 26.0 for Windows.

#### **4.8. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium IBL FK Unissula pada November - Desember 2025 (Lampiran 3).



#### 4.9. Alur Penelitian



Gambar 4.2. Alur Penelitian

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi efek pemberian gel ekstrak *Centella asiatica* dan ekstrak oral *Channa striata* terhadap kadar NF- $\kappa$ B dan KGF pada tikus Wistar model luka insisi diabetes. Penelitian eksperimental in vivo dilaksanakan pada November–Desember 2025 di Laboratorium Integrated Biomedical Laboratory (IBL) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung. Tikus jantan galur Wistar diinduksi diabetes menggunakan streptozotocin (STZ) dan nicotinamide (NA), kemudian dilakukan pembuatan luka insisi pada area dorsal. Hewan coba dibagi menjadi lima kelompok perlakuan dan kontrol. Kelompok perlakuan menerima gel *Centella asiatica* topikal (konsentrasi 10%) serta ekstrak oral *Channa striata* dengan dosis 100 mg/100 gBB selama 7 hari.

Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus dengan pembagian 6 ekor tikus perkelompok. Namun, dari total 30 ekor tikus yang diikutsertakan pada awal penelitian, hanya 25 ekor yang dapat dianalisis. Sebanyak 5 ekor tikus mengalami *drop out* akibat kematian selama periode penelitian serta tidak memenuhi kriteria hiperglikemia setelah induksi diabetes, sehingga tidak dapat disertakan dalam analisis. Oleh karena itu, analisis statistik dilakukan menggunakan jumlah sampel efektif, yaitu  $n=5$  pada masing-masing kelompok perlakuan.

#### 5.1. Hasil Penelitian

##### 5.1.1. Ekstraksi dan Uji Fitokimia *Centella asiatica*

Gel ekstrak *Centella asiatica* yang dihasilkan memiliki bentuk semi padat dengan konsistensi lembut dan mudah dioleskan. Secara

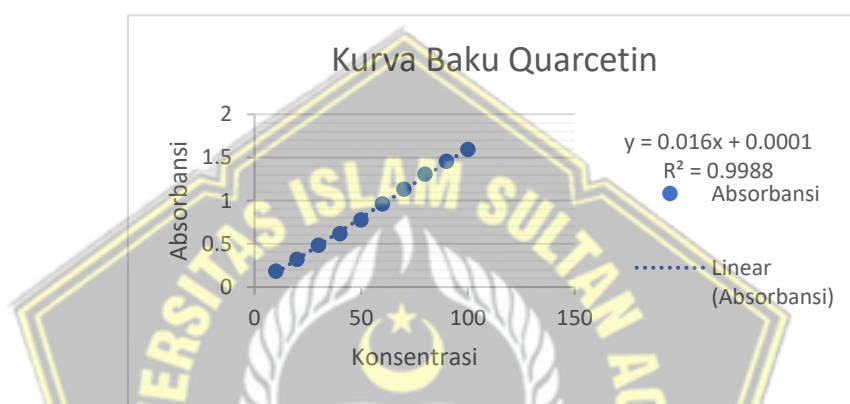
organoleptik, gel berwarna hijau kecoklatan sesuai karakteristik ekstrak, berbau khas ekstrak tanaman, dan tidak menunjukkan adanya partikel kasar. Uji homogenitas menunjukkan bahwa sediaan gel terdispersi secara merata tanpa adanya penggumpalan atau pemisahan fase. Gel yang dihasilkan memiliki tekstur yang stabil dan tidak menunjukkan perubahan warna maupun bau selama masa penyimpanan penelitian.



**Gambar 5.1.** Gel Ekstrak *Centella asiatica*

Hasil skrining dengan reagen spesifik menunjukkan bahwa ekstrak *Centella asiatica* mengandung senyawa bioaktif berupa flavonoid dan triterpenoid. Total flavonoid diukur menggunakan metode spektrofotometri berdasarkan kurva baku Quercetin ( $y = 0,016x + 0,0001$ ,  $R^2 = 0,9988$ ), dengan absorbansi rata-rata pada konsentrasi 100 ppm sebesar  $0,64 \pm 0,02$  ( $n = 3$ ), yang menghasilkan kandungan flavonoid sebesar 40,1 mg/L atau setara dengan 0,4006 mg QE/g ekstrak. Sementara itu, keberadaan triterpenoid terkonfirmasi

melalui uji kualitatif, menunjukkan bahwa ekstrak *Centella asiatica* juga kaya akan senyawa triterpenoid yang dikenal berperan dalam aktivitas antiinflamasi dan antioksidan. Temuan ini menegaskan bahwa ekstrak *Centella asiatica* memiliki komposisi senyawa bioaktif yang kompleks, yang mendukung potensinya sebagai agen nutraseutikal dengan aktivitas antioksidan dan antiinflamasi.



**Gambar 5.2.** Kurba baku Quarcetin

**Tabel 5.1.** Uji analisi Kuantitatif fitokimia *Centella asiatica*

| Replikasi | Konsentrasi (ppm) | Absorbansi | Rata-rata absorbansi | Kandungan awal Flavonoid (mg/L) | Kandungan total Flavonoid (mgQE/g ekstrak) |
|-----------|-------------------|------------|----------------------|---------------------------------|--------------------------------------------|
| 1         | 100               | 0,663      | 0,64                 | 40,1                            | 0.4006                                     |
| 2         | 100               | 0,638      |                      |                                 |                                            |
| 3         | 100               | 0,622      |                      |                                 |                                            |

**Tabel 5.2.** Uji analisis kualitatif fitokimia *Centella asiatica*

| No | Uji fitokimia | Reagen                                                 | Ekstrak Etanol <i>Centella Asiatica</i> |
|----|---------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 1. | Triterpenoid  | Asam acetat anhidrat<br>H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | +                                       |

#### 5.1.2. Analisis Profil Asam Amino *Channa striata*

Profil asam amino ekstrak *Channa striata* menunjukkan keberadaan berbagai asam amino esensial dan non-esensial (Tabel 5.3). Komponen dengan kadar tertinggi adalah asam glutamat (50.356,80 mg/kg), asam aspartat (32.130,99 mg/kg), lisin (30.011,46 mg/kg), leusin (23.915,75 mg/kg), dan glisin (22.613,68 mg/kg). Asam amino lain yang terdeteksi meliputi alanin, arginin, valin, fenilalanin, prolin, serin, treonin, histidin, isoleusin, dan tirosin. Asam amino berperan dalam sintesis protein, kolagen, dan mendukung proses penyembuhan luka melalui peningkatan pembentukan jaringan baru dan perbaikan struktur jaringan (Tabel 5.3.).

**Tabel 5.3. Profil Asam Amino Kapsul *Channa striata***

| No. | Parameter       | Hasil (mg/kg) |
|-----|-----------------|---------------|
| 1.  | L-Alanin        | 21934.60      |
| 2.  | L-Arginin       | 19619.97      |
| 3.  | L-Asam Aspartat | 32130.99      |
| 4.  | Glisin          | 22613.68      |
| 5.  | L-Asam Glutamat | 50356.80      |
| 6.  | L-Histidin      | 7648.23       |
| 7.  | L-Isoleusin     | 12313.96      |
| 8.  | L-leusin        | 23915.75      |
| 9.  | L--Lisin        | 30011.46      |
| 10. | L-Valin         | 13303.94      |
| 11. | L-Fenilalanin   | 14324.48      |
| 12. | L-Prolin        | 15776.24      |
| 13. | L-Serin         | 12720.53      |
| 14. | L-Treonin       | 11943.35      |
| 15. | L-Tirosin       | 4474.49       |

### 5.1.3. Hasil Analisis Validitas Gula Darah Sewaktu (GDS) hewan coba

Dalam penelitian ini, pemeriksaan Gula Darah Sewaktu (GDS) dilakukan pada tikus *pre-treatment* dan *post-treatment*. Pemeriksaan ini bertujuan untuk memastikan bahwa seluruh tikus tetap berada dalam kondisi diabetes sepanjang periode penelitian, sehingga data yang diperoleh mempresentasikan respons perlakuan pada subjek yang diabetes. Pengukuran GDS dilakukan secara konsisten untuk setiap tikus, sehingga status glikemik subjek dapat tervalidasi sebelum analisis lebih lanjut (Tabel 5.4.).

**Tabel 5.4. Data hasil Analisis GDS *Pre-treatment***

Berdasarkan uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk*, data

| Kelompok<br>Perlakuan | Kadar GDS <i>Pre-treatment</i> (mg/L)<br><br>Rerata $\pm$ | <i>p value</i>  |             |                  |
|-----------------------|-----------------------------------------------------------|-----------------|-------------|------------------|
|                       |                                                           | Shapiro<br>Wilk | Levene test | One-Way<br>ANOVA |
| K1                    | 104,20 $\pm$ 11,78                                        | 0,440           | >0,05       | <0,001           |
| K2                    | 381,60 $\pm$ 50,76                                        | 0,500           |             |                  |
| K3                    | 393,80 $\pm$ 31,29                                        | 0,139           |             |                  |
| K4                    | 396,20 $\pm$ 61,27                                        | 0,763           |             |                  |
| K5                    | 347,20 $\pm$ 26,78                                        | 0,843           |             |                  |

GDS *pre-treatment* pada seluruh kelompok menunjukkan distribusi normal ( $p > 0,05$ ). Namun demikian, hasil uji homogenitas menggunakan uji *Levene* menunjukkan bahwa data GDS *pre-treatment* belum memenuhi asumsi homogenitas ( $p < 0,05$ ). Oleh karena itu, dilakukan transformasi data. Setelah transformasi, hasil uji *Levene* menunjukkan bahwa data telah memenuhi asumsi

homogenitas varians ( $p > 0,05$ ). Dengan terpenuhinya asumsi normalitas dan homogenitas, analisis dilanjutkan menggunakan *One Way ANOVA*.

Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik antar kelompok pada GDS *pre-treatment* ( $p < 0,001$ ) yang mencerminkan adanya perbedaan antara kelompok kontrol normal dan kelompok diabetes. Karena hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik ( $p < 0,001$ ), analisis dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tamhane* menggunakan metode LSD untuk mengetahui pasangan kelompok yang berbeda secara signifikan.

**Tabel 5.5. Uji *post hoc Tamhane* GDS *Pre-treatment* pada masing-masing Kelompok**

| GDS           | Perbandingan kelompok           | Perbedaan rerata | Nilai p |
|---------------|---------------------------------|------------------|---------|
| Pre-treatment | K1 vs K2                        | -277.400         | < 0,001 |
|               | K1 vs K3                        | -289.000         | < 0,001 |
|               | K1 vs K4                        | -292.000         | < 0,001 |
|               | K1 vs K5                        | -243.000         | < 0,001 |
|               | Antar kelompok diabetes (K2–K5) |                  | > 0,05  |

\* perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ )

Hasil uji *post hoc* pada GDS *pre-treatment* menunjukkan bahwa kelompok kontrol normal (K1) memiliki rerata GDS yang secara bermakna lebih rendah dibandingkan seluruh kelompok diabetes (K2, K3, K4, dan K5) ( $p < 0,001$ ). Sebaliknya, perbandingan antar

kelompok diabetes (K2–K5) tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik ( $p > 0,05$ ). Temuan ini menunjukkan bahwa sebelum perlakuan, seluruh kelompok diabetes berada pada kondisi hiperglikemia yang relatif homogen, sehingga memenuhi syarat sebagai variabel prekondisi yang valid untuk penelitian ini.

**Tabel 5.6. Data hasil Analisis GDS *Post-treatment***

Berdasarkan table 5.6, uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* data GDS *post-treatment* pada seluruh kelompok menunjukkan

| Kelompok<br>Perlakuan | Kadar GDS<br><i>Post-treatment</i><br>(mg/L) Rerata $\pm$ | <i>p value</i>  |             |                  |
|-----------------------|-----------------------------------------------------------|-----------------|-------------|------------------|
|                       |                                                           | Shapiro<br>Wilk | Levene test | One-Way<br>ANOVA |
| K1                    | 78,40 $\pm$ 21,27                                         | 0,507           | >0,05       | <0,001           |
| K2                    | 355,00 $\pm$ 25,24                                        | 0,919           |             |                  |
| K3                    | 327,00 $\pm$ 35,27                                        | 0,155           |             |                  |
| K4                    | 336,00 $\pm$ 30,09                                        | 0,806           |             |                  |
| K5                    | 290,60 $\pm$ 49,55                                        | 0,602           |             |                  |

distribusi normal ( $p > 0,05$ ). Hasil uji *Levene* menunjukkan bahwa data GDS *post-treatment* telah memenuhi asumsi homogenitas varians ( $p > 0,05$ ). Dengan terpenuhinya asumsi normalitas dan homogenitas, analisis dilanjutkan menggunakan *One Way ANOVA*. Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik antar kelompok pada GDS *post-treatment* ( $p < 0,001$ ) yang mencerminkan adanya perbedaan antara kelompok kontrol normal dan kelompok diabetes. Karena hasil uji *One Way ANOVA*

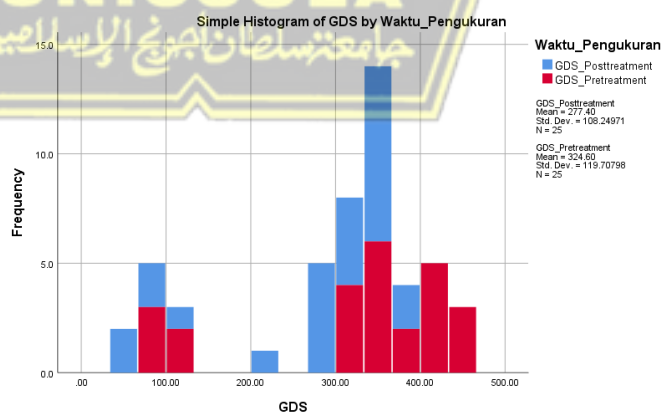
menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik ( $p < 0,001$ ), analisis dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tamhane* menggunakan metode LSD untuk mengetahui pasangan kelompok yang berbeda secara signifikan.

**Tabel 5.7. Uji *post hoc Tamhane* GDS *Post-treatment* pada masing-masing Kelompok**

| Variabel              | Perbandingan kelompok           | Perbedaan rerata | Nilai p |
|-----------------------|---------------------------------|------------------|---------|
| <i>Post-treatment</i> | K1 vs K2                        | -276.000         | < 0,001 |
|                       | K1 vs K3                        | -248.000         | < 0,001 |
|                       | K1 vs K4                        | -257.000         | < 0,001 |
|                       | K1 vs K5                        | -212.200         | < 0,001 |
|                       | Antar kelompok diabetes (K2–K5) |                  | > 0,05  |

Hasil uji *Post Hoc Tamhane* pada GDS *post-treatment* menunjukkan bahwa rerata GDS kelompok kontrol normal (K1) lebih rendah dibandingkan seluruh kelompok diabetes (K2–K5), yang menegaskan perbedaan status glikemik antara tikus normal dan tikus diabetes. Tidak ditemukannya perbedaan yang bermakna antar kelompok diabetes menunjukkan bahwa seluruh kelompok perlakuan tetap berada dalam kondisi hiperglikemia yang relatif homogen hingga akhir penelitian. Temuan ini mengindikasikan bahwa perlakuan yang diberikan tidak mengubah status diabetes tikus, sehingga seluruh tikus tetap berada dalam kondisi diabetes hingga akhir penelitian.

Histogram gabungan kadar gula darah sewaktu (GDS) memperlihatkan perbedaan pola distribusi antara fase *pretreatment* dan *posttreatment*. Pada fase *pretreatment*, sebagian besar nilai GDS terkonsentrasi pada rentang yang lebih tinggi, yaitu sekitar 300–450 mg/dL, yang menunjukkan kondisi hiperglikemia pada hewan coba sebelum perlakuan. Sebaliknya, pada fase *posttreatment*, distribusi nilai GDS bergeser ke rentang yang lebih rendah, terutama pada kisaran 250–350 mg/dL, bahkan sebagian data mendekati nilai normal. Pergeseran distribusi nilai GDS ke rentang yang lebih rendah pada fase *posttreatment* mengindikasikan bahwa perlakuan memberikan efek penurunan kadar gula darah pada hewan coba, meskipun sebagian besar nilai masih berada pada kisaran hiperglikemia. Temuan ini menunjukkan adanya perbaikan status glikemik, namun belum sepenuhnya mencapai kondisi normoglikemia. (Gambar 5.3).



**Gambar 5.3.** Histogram Distribusi GDS *Pretest* dan *Posttest*

#### 5.1.4. Perubahan Morfologi Luka Selama Proses Penyembuhan

Pengamatan morfologi luka insisi pada seluruh kelompok penelitian dilakukan secara visual pada hari ke-1, ke-4, dan ke-7 pasca pembuatan luka. Pada hari ke-1, seluruh kelompok menunjukkan gambaran luka insisi yang masih terbuka dengan tepi luka yang jelas, dasar luka berwarna kemerahan, serta tampak adanya perdarahan ringan dan eksudat. Kondisi ini mencerminkan fase inflamasi awal yang relatif seragam pada semua kelompok, baik kontrol maupun kelompok perlakuan.

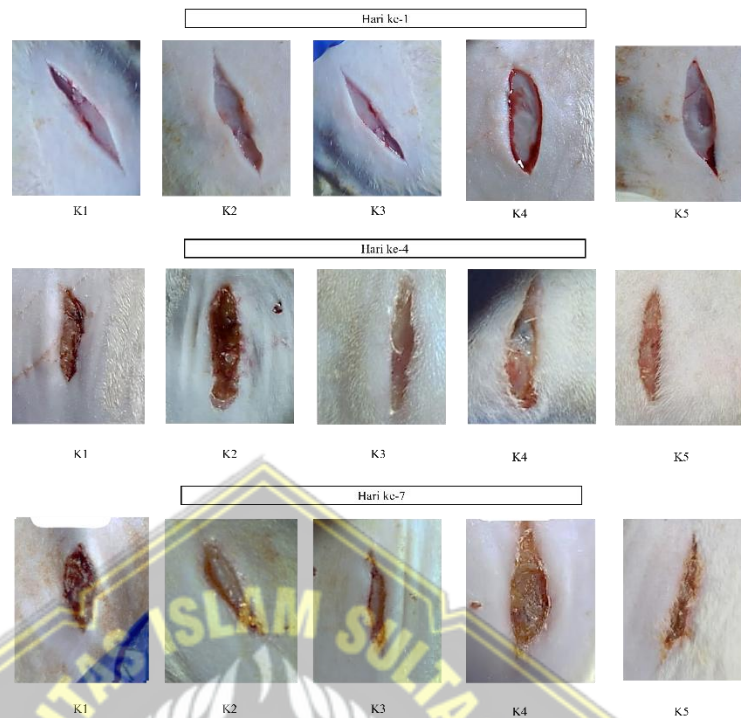
Pada hari ke-4, mulai terlihat perbedaan gambaran morfologi luka antar kelompok. Kelompok kontrol diabetes masih memperlihatkan luka yang relatif terbuka dengan jaringan granulasinya belum merata dan sisa eksudat yang masih tampak. Sebaliknya, kelompok perlakuan, khususnya yang menerima *Centella asiatica*, *Channa striata*, maupun kombinasi keduanya, menunjukkan kecenderungan penyempitan celah luka, permukaan luka yang lebih kering, serta pembentukan jaringan granulasinya yang lebih homogen dibandingkan kelompok kontrol.

Pada hari ke-7, perbaikan morfologi luka tampak lebih jelas pada kelompok perlakuan. Luka pada kelompok yang mendapat kombinasi *Centella asiatica* dan *Channa striata* menunjukkan tepi luka yang semakin menyatu, permukaan luka yang lebih kering, serta jaringan penutup yang lebih stabil dibandingkan kelompok kontrol diabetes. Sementara itu, pada kelompok kontrol diabetes, luka masih

tampak dengan area terbuka yang lebih luas dan jaringan granulasinya belum sepenuhnya matang.

Secara keseluruhan, pengamatan visual ini menunjukkan adanya kecenderungan perbaikan morfologi luka yang lebih cepat pada kelompok perlakuan, terutama pada kelompok kombinasi, dibandingkan kelompok kontrol. Percepatan penutupan luka ini berkaitan dengan kemampuan kombinasi kedua agen tersebut dalam menargetkan lebih dari satu fase kunci penyembuhan luka secara sinergis.

Pada kondisi luka diabetes, inflamasi cenderung berlangsung lebih lama akibat aktivasi jalur NF- $\kappa$ B yang persisten, sehingga menghambat transisi menuju fase proliferasi.<sup>42</sup> Pemberian gel topikal *Centella asiatica* dan oral *Channa striata* berperan menekan inflamasi berlebih melalui modulasi jalur NF- $\kappa$ B serta penurunan produksi sitokin proinflamasi, sehingga mempercepat resolusi inflamasi dan menciptakan lingkungan luka yang lebih kondusif bagi penyembuhan.<sup>23,26,27,96</sup> Namun demikian, pengamatan ini bersifat deskriptif dan digunakan sebagai data pendukung, sehingga tidak dilakukan analisis terhadap morfologi luka. (Gambar 5.4)



**Gambar 5.4.** Morfologi Luka Insisi Pada Tikus Wistar Model Diabetes

#### 5.1.5. Hasil Analisis Kadar NF- $\kappa$ B

Pada penelitian ini pemeriksaan kadar NF- $\kappa$ B dilakukan dengan metode ELISA pada hari ke-8 penelitian. Pemeriksaan kadar NF- $\kappa$ B dilakukan pada setiap tikus di seluruh kelompok perlakuan. Setelah hasil ELISA kadar NF- $\kappa$ B diterima, dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas varians menggunakan *uji Levene*. (Tabel 5.8).

**Tabel 5.8.** Data hasil Penelitian Kadar NF- $\kappa$ B

| Kelompok<br>Perlakuan | Kadar NF- $\kappa$ B<br>(ng/L) Rerata $\pm$ | <i>p value</i>  |             |                  |
|-----------------------|---------------------------------------------|-----------------|-------------|------------------|
|                       |                                             | Shapiro<br>Wilk | Levene test | One-Way<br>ANOVA |

|    |             |       |       |       |
|----|-------------|-------|-------|-------|
| K1 | 2,41 ± 0,74 | 0,243 | >0,05 | 0,685 |
| K2 | 2,54 ± 0,44 | 0,839 |       |       |
| K3 | 2,29 ± 0,26 | 0,848 |       |       |
| K4 | 2,09 ± 0,41 | 0,201 |       |       |
| K5 | 2,26 ± 0,51 | 0,218 |       |       |

Keterangan :

- Uji Saphiro Wilk ( $p > 0,05$  = normal)
- Levene's Test ( $p > 0,05$  = homogen)
- One way ANOVA/Kruskall Wallis ( $p < 0,05$  = perbedaan signifikan)

Berdasarkan table 5.8, rerata kadar NF- $\kappa$ B terendah penelitian ini terdapat pada K4 dengan nilai  $2,09 \pm 0,41$ . Diikuti oleh kadar NF- $\kappa$ B pada K5 dengan rerata  $2,26 \pm 0,51$ , selanjutnya K3 sebesar  $2,29 \pm 0,26$ , kemudian K1  $2,41 \pm 0,74$  dan yang tertinggi terdapat pada K2 dengan nilai rerata  $2,54 \pm 0,44$ .

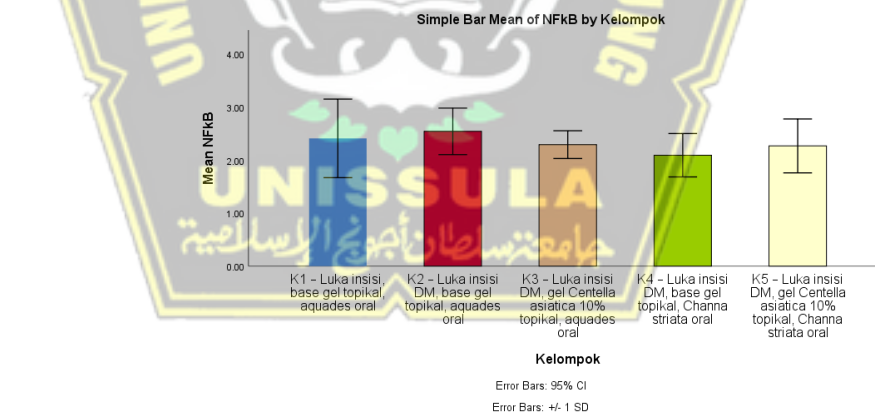
Secara umum, urutan rerata kadar NF- $\kappa$ B dari yang terendah hingga tertinggi adalah K4, K5, K3, K1, dan K2. Hasil ini menunjukkan bahwa kelompok perlakuan cenderung memiliki kadar NF- $\kappa$ B yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol diabetes.

Data kadar NF- $\kappa$ B pada seluruh kelompok penelitian menunjukkan distribusi normal, yang dibuktikan melalui uji normalitas *Shapiro Wilk* dengan nilai  $p > 0,05$  pada masing-masing

kelompok. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa data memenuhi asumsi normalitas.

Hasil uji homogenitas varians menggunakan uji *Levene* menunjukkan nilai  $p > 0,05$ , yang menandakan bahwa varians data antar kelompok adalah homogen. Dengan terpenuhinya asumsi normalitas dan homogenitas, maka data kadar NF- $\kappa$ B memenuhi syarat untuk dianalisis menggunakan uji parametrik *One Way ANOVA*.

Hasil uji *One-Way ANOVA* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antar kelompok pada kadar NF- $\kappa$ B ( $p > 0,05$ ), sehingga uji lanjut (*Post Hoc Tamhane*) tidak dilakukan sesuai dengan kaidah analisa statistik.



**Gambar 5.5.** Rerata Kadar NF- $\kappa$ B pada Seluruh Kelompok Penelitian.

#### 5.1.6. Hasil Analisis Kadar KGF

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran kadar *Keratinocyte Growth Factor* (KGF) dengan menggunakan metode ELISA pada hari

ke-8 penelitian. Pemeriksaan kadar KGF dilakukan pada setiap tikus di seluruh kelompok perlakuan. Setelah data hasil kadar KGF diterima, dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas varians menggunakan *uji Levene*. (Tabel 5.9).

**Tabel 5.9. Data hasil Penelitian Kadar KGF**

| Kelompok<br>Perlakuan | Kadar KGF (ng/L)<br><br>Rerata $\pm$ | <i>p value</i>  |             |                   |
|-----------------------|--------------------------------------|-----------------|-------------|-------------------|
|                       |                                      | Shapiro<br>Wilk | Levene test | Kruskal<br>Wallis |
| K1                    | 750,94 $\pm$ 117,32                  | 0,012           | >0,05       | 0,285             |
| K2                    | 851,78 $\pm$ 100,10                  | 0,461           |             |                   |
| K3                    | 834,33 $\pm$ 98,20                   | 0,980           |             |                   |
| K4                    | 808,12 $\pm$ 75,27                   | 0,732           |             |                   |
| K5                    | 775,69 $\pm$ 59,57                   | 0,145           |             |                   |

Keterangan :

- Uji Saphiro Wilk ( $p > 0,05$  = normal)
- Levene's Test ( $p > 0,05$  = homogen)
- One way ANOVA/Kruskall Wallis ( $p < 0,05$  = perbedaan signifikan)
- *Effect Size* ( $\eta^2$ ) :  $\sim 0,01$  (kecil),  $\sim 0,06$  (moderat),  $\sim >0,14$  (besar)

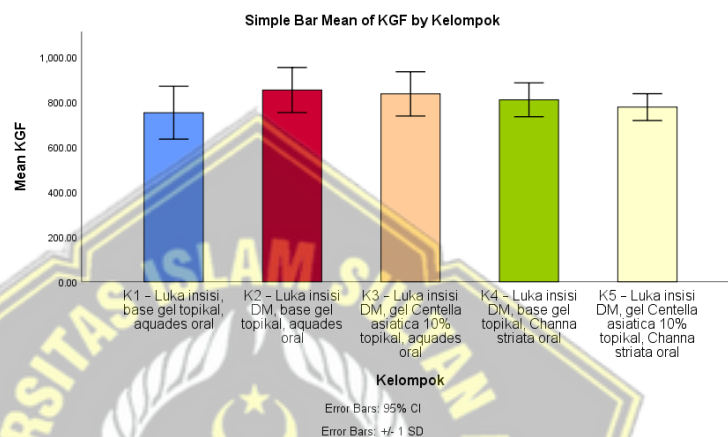
Berdasarkan hasil penelitian yang ditunjukkan pada tabel 5.8, didapatkan bahwa K2 menunjukkan rerata kadar KGF tertinggi (851,78  $\pm$  100,10), diikuti oleh K3 (834,33  $\pm$  98,20), K4 (808,12  $\pm$  75,27), K5 (775,69  $\pm$  59,57), dan rerata terendah terdapat pada K1

(750,94  $\pm$  117,32). Variasi rerata ini menunjukkan adanya perbedaan kecenderungan kadar KGF antar kelompok perlakuan. Secara umum, urutan rerata kadar KGF dari yang tertinggi hingga terendah adalah K2, K3, K4, K5, dan K1, yang menunjukkan bahwa kelompok luka K2 cenderung memiliki kadar KGF lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan. Meskipun demikian, perbedaan kadar KGF antar kelompok tersebut tidak bermakna secara statistik, sehingga peningkatan kadar KGF tidak selalu mencerminkan perbaikan kualitas penyembuhan luka pada kondisi diabetes.

Uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* menunjukkan bahwa distribusi data kadar KGF pada sebagian besar kelompok berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ), yaitu pada kelompok K2, K3, K4, dan K5. Namun, pada kelompok K1 diperoleh nilai  $p < 0,05$ , yang menunjukkan bahwa data kadar KGF pada kelompok tersebut tidak berdistribusi normal. Transformasi data telah dilakukan pada variabel KGF, namun hasil uji normalitas menunjukkan bahwa distribusi data masih belum normal.

Uji homogenitas varians menggunakan uji Levene menunjukkan bahwa data kadar KGF memiliki varians yang homogen antar kelompok penelitian ( $p > 0,05$ ). Oleh karena terdapat satu kelompok dengan distribusi data yang tidak normal, maka data kadar KGF tidak memenuhi asumsi normalitas, sehingga analisis dilanjutkan menggunakan uji non-parametrik *Kruskal Wallis* (Tabel 5.8). Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa tidak terdapat

perbedaan yang signifikan secara statistik antar kelompok penelitian kadar KGF ( $p > 0,05$ ). Hal ini mengindikasikan bahwa perbedaan rerata yang teramati secara deskriptif belum cukup kuat secara statistik untuk menyimpulkan adanya perbedaan nyata kadar KGF antar kelompok perlakuan.



**Gambar 5.1.** Rerata Kadar KGF Pada Seluruh Kelompok Penelitian.

## 5.2. Pembahasan

Validasi model diabetes dilakukan berdasarkan hasil pemeriksaan kadar GDS. Sebelum perlakuan, kelompok yang diinduksi streptozotocin dan nicotinamide (K2 - K5) menunjukkan kadar GDS yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif (K1). Rerata GDS *pre-treatment* pada K1 sebesar  $104,20 \pm 11,78$  mg/dL, sedangkan pada kelompok yang diinduksi berkisar antara 347,20–396,20 mg/dL ( $p < 0,001$ ). Hasil ini menunjukkan bahwa induksi diabetes berhasil menghasilkan kondisi hiperglikemia pada kelompok perlakuan. Setelah periode perlakuan, kadar GDS *post-treatment* tetap menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ( $p < 0,001$ ), dengan kelompok kontrol negatif berada dalam rentang

normoglikemia ( $78,40 \pm 21,27$  mg/dL), sedangkan kelompok diabetes tetap dalam kondisi hiperglikemia ( $290,60 - 355,00$  mg/dL). Hal ini menegaskan bahwa kondisi diabetes tetap terjaga selama penelitian berlangsung.

Validasi model luka dilakukan melalui observasi morfologi luka. Dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (K1), kelompok kontrol diabetes (K2) menunjukkan proses penyembuhan luka yang lebih lambat, ditandai dengan penyempitan luka yang lebih minimal dan tanda inflamasi yang masih jelas pada hari ke-4 dan ke-7. Perbedaan ini menunjukkan bahwa kondisi hiperglikemia berkontribusi terhadap keterlambatan proses penyembuhan luka. Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa pada DM terjadi keterlambatan penyembuhan luka, yang dilaporkan berhubungan dengan peningkatan respons inflamasi, stres oksidatif, gangguan angiogenesis, proliferasi fibroblas, dan sintesis kolagen.<sup>48,68</sup>

Kadar NF- $\kappa$ B pada kelompok kontrol diabetes (K2) menunjukkan nilai yang lebih tinggi dibandingkan kontrol negatif (K1), selaras dengan kondisi hiperglikemia dan gambaran morfologi luka yang mengalami keterlambatan penyembuhan luka. Temuan ini konsisten dengan laporan pada penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa, luka pada pasien diabetes menunjukkan tingkat aktivasi NF- $\kappa$ B yang lebih tinggi dibandingkan kelompok non diabetik.<sup>5</sup> Aktivasi NF- $\kappa$ B yang persisten pada kondisi diabetes menyebabkan respon inflamasi yang berkepanjangan, menghambat transisi ke fase proliferasi, serta berkontribusi terhadap gangguan

pembentukan jaringan granulasi dan epitelisasi.<sup>38</sup> Kondisi tersebut menunjukkan bahwa peningkatan kadar NF- $\kappa$ B pada K2 mencerminkan karakteristik patofisiologis luka diabetes dengan penyembuhan yang lebih lambat dibandingkan kelompok kontrol normal.

Kadar KGF pada kelompok kontrol diabetes (K2) menunjukkan nilai yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif. Beberapa penelitian melaporkan bahwa pada DM terjadi penurunan kadar KGF dengan pola induksi KGF yang bersifat prematur, tertunda, atau bahkan tidak muncul dibandingkan dengan tikus sehat.<sup>9</sup> Namun, studi lain menunjukkan bahwa lingkungan inflamasi yang meningkat pada kondisi hiperglikemia dapat menstimulasi ekspresi faktor pertumbuhan tertentu, termasuk KGF, melalui pengaruh sitokin proinflamasi seperti IL-1.<sup>132</sup> Temuan ini menunjukkan bahwa KGF tidak hanya berperan dalam fase proliferasi, tetapi juga terlibat dalam regulasi respons inflamasi.

Dalam penelitian ini, peningkatan kadar NF- $\kappa$ B pada K2 mengindikasikan aktivasi jalur inflamasi yang persisten akibat hiperglikemia. Kondisi inflamasi tersebut berpotensi memengaruhi dinamika ekspresi KGF. Meskipun kadar KGF pada K2 relatif lebih tinggi, gambaran morfologi luka tetap menunjukkan proses penyembuhan yang lebih lambat dibandingkan kontrol normal. Peningkatan kadar KGF pada kelompok K2 tampaknya lebih merefleksikan respons awal terhadap aktivasi inflamasi dibandingkan dengan efektivitas proses penyembuhan luka secara keseluruhan, sehingga tidak

secara langsung berbanding lurus dengan perbaikan klinis luka yang optimal.<sup>55</sup>

Kelompok K3 yang mendapatkan gel *Centella asiatica* menunjukkan rerata kadar NF- $\kappa$ B yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol diabetes (K2), meskipun perbedaan tersebut tidak signifikan secara statistik. Penurunan ini secara biologis konsisten dengan laporan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa senyawa triterpenoid dapat menghambat jalur NF- $\kappa$ B melalui inhibisi IKK $\beta$  dan mendukung regenerasi jaringan. Dibandingkan dengan kontrol normal (K1), kadar NF- $\kappa$ B pada K3 juga menunjukkan nilai yang sedikit lebih rendah, yang mengindikasikan bahwa pemberian *Centella asiatica* tidak meningkatkan respons inflamasi dan cenderung memodulasi jalur inflamasi pada model luka diabetes.<sup>22,133</sup>

Pada variabel KGF, kelompok K3 menunjukkan kadar KGF yang sedikit lebih rendah dibandingkan K2 dan sedikit lebih tinggi dibandingkan kontrol normal, meskipun perbedaan tersebut tidak signifikan secara statistik. Pola ini menunjukkan bahwa kadar KGF pada model luka diabetes tidak bersifat linear terhadap kondisi hiperglikemia. Pada kelompok K2, lingkungan inflamasi yang lebih tinggi dapat memengaruhi dinamika ekspresi faktor pertumbuhan. Sementara itu, pada K3 yang mendapatkan *Centella asiatica*, penurunan kadar NF- $\kappa$ B menunjukkan adanya modulasi respon inflamasi, yang kemungkinan turut memengaruhi keseimbangan faktor pertumbuhan.<sup>132</sup> Namun demikian, karena tidak ditemukan perbedaan yang

bermakna secara statistik, temuan ini perlu diinterpretasikan sebagai kecenderungan pola biologis, bukan sebagai efek yang definitif.

Kelompok K4 yang mendapatkan ekstrak *Channa striata* menunjukkan rerata kadar NF- $\kappa$ B yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol diabetes (K2). Penurunan ini menunjukkan arah perubahan yang konsisten dengan potensi efek antiinflamasi kandungan omega-3 dan omega-6 yang diketahui mampu menghambat aktivasi TLR-4 beserta kaskade hilirnya, termasuk NF- $\kappa$ B, sehingga menurunkan produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ .<sup>17,18</sup> Omega-3 dapat menekan sitokin proinflamasi melalui aktivasi PPAR $\gamma$ , yang menghambat degradasi I $\kappa$ B dan pada akhirnya mencegah translokasi NF- $\kappa$ B ke dalam inti sel. Kandungan PUFA *Channa striata* juga dapat menurunkan aktivitas NF- $\kappa$ B pada kondisi peradangan.<sup>17</sup> Dibandingkan dengan kelompok K3 dan K1, kadar NF- $\kappa$ B pada K4 secara rerata juga tampak lebih rendah yang mengindikasikan adanya kecenderungan modulasi respon inflamasi.

Sejalan dengan penurunan respons inflamasi tersebut, K4 yang mendapatkan ekstrak *Channa striata* menunjukkan rerata kadar KGF yang lebih rendah dibandingkan K2 dan K3. Jika dibandingkan dengan K1, kadar KGF pada K4 masih relatif lebih tinggi. Hasil ini menunjukkan bahwa kadar KGF pada kelompok yang menerima *Channa striata* tidak meningkat secara berlebihan dibanding kelompok perlakuan lain, namun tetap lebih tinggi dibanding kontrol. Pola ini mengindikasikan adanya kecenderungan modulasi faktor pertumbuhan dalam lingkungan luka, yang kemungkinan

mencerminkan proses penyembuhan yang berlangsung lebih seimbang. Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa ekstrak *Channa striata* meningkatkan jumlah fibroblast melalui mekanisme biologis yang melibatkan stimulasi faktor pertumbuhan luka seperti TGF- $\beta$ 1, FGF, dan PDGF, serta dukungan albumin dan mineral esensial dalam sintesis kolagen dan matriks ekstraseluler. Mekanisme ini mendukung fase proliferasi jaringan tanpa menyebabkan aktivasi faktor pertumbuhan yang berlebihan.<sup>134</sup> Kondisi ini mengindikasikan lingkungan penyembuhan luka yang lebih seimbang, di mana inflamasi yang terkendali diikuti oleh regulasi faktor pertumbuhan yang adekuat.

K5 menunjukkan kadar NF- $\kappa$ B yang lebih rendah dibandingkan K2, K3, dan K4, yang mengindikasikan kontrol respons inflamasi yang lebih efektif. Penurunan aktivasi jalur inflamasi ini berperan dalam memperbaiki lingkungan luka dan mendukung transisi menuju fase penyembuhan berikutnya. Temuan ini konsisten dengan laporan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa senyawa triterpenoid dapat menghambat jalur NF- $\kappa$ B melalui inhibisi IKK $\beta$  dan mendukung regenerasi jaringan.<sup>22,133</sup> Efek terapeutik ini diduga diperkuat oleh kandungan omega-3, omega-6 dan PUVA *Channa striata* yang berpotensi menghambat aktivasi TLR-4 beserta kaskade sinyal selanjutnya, termasuk NF- $\kappa$ B, sehingga menurunkan produksi sitokin proinflamasi.<sup>17,18</sup>

Sejalan dengan perbaikan respons inflamasi tersebut, K5 menunjukkan kadar KGF yang lebih tinggi dibandingkan kontrol diabetes

(K2), yang mengindikasikan peningkatan aktivitas proliferasi dan epitelisasi jaringan. Jika dibandingkan dengan K3 dan K4, kadar KGF pada K5 tidak menunjukkan peningkatan yang lebih tinggi, sehingga mencerminkan respons proliferasi yang tetap terregulasi dalam proses penyembuhan luka. Temuan ini sejalan dengan laporan sebelumnya mengenai peran *Centella asiatica* dan *Channa striata* dalam modulasi inflamasi dan penyembuhan luka. Secara mekanistik, kedua agen tersebut diketahui berperan dalam menekan inflamasi persisten melalui penghambatan aktivasi NF- $\kappa$ B, sehingga berpotensi menciptakan mikroenvironment luka yang lebih kondusif bagi proliferasi fibroblas, sintesis kolagen, dan sekresi faktor pertumbuhan, serta mendukung regenerasi jaringan.<sup>26,27,96,135</sup> Sejalan dengan mekanisme tersebut, penelitian pada hewan coba juga menunjukkan bahwa suplementasi oral *Channa striata* dapat meningkatkan tensile strength jaringan, jumlah fibroblas, serta kadar hidroksiprolin, yang berkontribusi terhadap percepatan proses penyembuhan luka.<sup>27</sup>

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, yaitu pengukuran biomarker dilakukan pada sampel darah sehingga merepresentasikan kondisi inflamasi sistemik dan belum tentu sepenuhnya mencerminkan dinamika aktivasi NF- $\kappa$ B pada jaringan luka. Respons imun sistemik dan lokal diketahui tidak selalu berjalan paralel, sehingga interpretasi hasil perlu mempertimbangkan kemungkinan perbedaan respons pada tingkat jaringan.<sup>136</sup> Selain itu, ekspresi NF- $\kappa$ B dan KGF bersifat dinamis dan dipengaruhi oleh fase penyembuhan luka. Pengambilan sampel pada satu titik

waktu tertentu mungkin belum mencerminkan puncak aktivitas biologis kedua biomarker tersebut.<sup>54,137,138</sup>



## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diatas, maka dapat disimpulkan :

1. Pemberian kombinasi gel *Centella asiatica* dan oral *Channa striata* tidak menunjukkan pengaruh signifikan terhadap kadar NF- $\kappa$ B pada kulit tikus Wistar model luka insisi diabetes. Meskipun tidak signifikan secara statistik, kadar NF- $\kappa$ B pada kelompok perlakuan menunjukkan kecenderungan lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol diabetes. Temuan ini menunjukkan adanya kecenderungan modulasi respons inflamasi pada kondisi luka diabetes.
2. Pemberian kombinasi gel *Centella asiatica* dan oral *Channa striata* tidak menunjukkan pengaruh signifikan terhadap kadar KGF pada kulit tikus Wistar model luka insisi diabetes. Kadar KGF menunjukkan variasi antar kelompok, dengan nilai tertinggi pada kelompok kontrol diabetes. Perbedaan ini mencerminkan dinamika respons biologis selama proses penyembuhan luka, di mana ekspresi KGF dipengaruhi oleh kondisi inflamasi dan fase perbaikan jaringan.

#### 6.2. Saran

Saran untuk penelitian ini adalah :

1. Pengukuran NF- $\kappa$ B secara langsung pada jaringan luka sehingga hasil penelitian dapat lebih mencerminkan dinamika NF- $\kappa$ B yang berperan dalam proses penyembuhan luka.

2. Pemantauan biomarker pada beberapa titik waktu selama proses penyembuhan luka diperlukan untuk menggambarkan perubahan dinamis NF- $\kappa$ B dan KGF sesuai fase penyembuhan luka.
3. Studi lanjutan diperlukan untuk mengevaluasi mekanisme kerja kombinasi terapi melalui pemeriksaan molekuler seperti PCR dan imunohistokimia pada jaringan luka, serta menilai efektivitasnya dalam mendukung penyembuhan luka diabetes.



## DAFTAR PUSTAKA

1. Tan WS, Arulselvan P, Ng SF, Mat Taib CN, Sarian MN, Fakurazi S. Improvement of diabetic wound healing by topical application of vichenin-2 hydrocolloid film on Sprague Dawley rats. BMC Complement Altern Med. 2019;19(1):34. doi:10.1186/s12906-018-2427-y.
2. Armstrong DG, Boulton AJM, Bus SA. Diabetic foot ulcers and their recurrence. N Engl J Med. 2017;376(24):2367–2375. doi:10.1056/NEJMra1615439.
3. Ren J, Yang M, Xu F, Chen J, Ma S. Acceleration of wound healing activity with syringic acid in streptozotocin-induced diabetic rats. Life Sci. 2019;233:116728. doi:10.1016/j.lfs.2019.116728.
4. Ahmed R, Augustine R, Chaudhry M, *et al.* Nitric oxide-releasing biomaterials for promoting wound healing in impaired diabetic wounds: state of the art and recent trends. Biomed Pharmacother. 2022;149:112707. doi:10.1016/j.biopha.2022.112707.
5. Ju CC, Liu XX, Liu L, *et al.* Epigenetic modification: a novel insight into diabetic wound healing. Heliyon. 2024;10(6):e28086. doi:10.1016/j.heliyon.2024.e28086.
6. Jones JJ, Nguyen TT, Peng Z, Chang M. Targeting MMP-9 in diabetic foot ulcers. Pharmaceuticals (Basel). 2019;12(2):79. doi:10.3390/ph12020079.
7. Kao HK, Chen B, Murphy GF, Li Q, Orgill DP, Guo L. Peripheral blood fibrocytes: enhancement of wound healing by cell proliferation, re-epithelialization, contraction, and angiogenesis. Ann Surg. 2011;254(6):1066–1074. doi:10.1097/SLA.0b013e3182251559.
8. Peng C, Chen B, Kao HK, Murphy G, Orgill DP, Guo L. Lack of FGF-7 further delays cutaneous wound healing in diabetic mice. Plast Reconstr Surg. 2011;128(6):673–684. doi:10.1097/PRS.0b013e318230c521.
9. Peng C, He Q, Luo C. Lack of keratinocyte growth factor retards angiogenesis in cutaneous wounds. J Int Med Res. 2011;39:416–423.
10. Gohil KJ, Patel JA, Gajjar AK. Pharmacological review on *Centella asiatica*: a potential herbal cure-all. Indian J Pharm Sci. 2010;72(5):546–556.
11. 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(6):3266. doi:10.3390/ijerph19063266.

12. Park KS. Pharmacological effects of *Centella asiatica* on skin diseases: evidence and possible mechanisms. Evid Based Complement Alternat Med. 2021;2021:5462633. doi:10.1155/2021/5462633.
13. Sychrová A, Škovranová G, Čulenová M, Bittner Fialová S. Prenylated flavonoids in topical infections and wound healing. Molecules. 2022;27(14):4491. doi:10.3390/molecules27144491.
14. Singkhorn S, Tantisira MH, Tanasawet S, Hutamekalin P, Wongtawatchai T, Sukketsiri W. Induction of keratinocyte migration by ECa 233 is mediated through FAK/Akt, ERK, and p38 MAPK signaling. Phytother Res. 2018;32(7):1397–1403. doi:10.1002/ptr.6075.
15. Lee VLL, Choo BKM, Norazit A, Noor SM, Shaikh MF. *Channa striatus* in inflammatory conditions: a systematic review. Front Pharmacol. 2022;13:1076143. doi:10.3389/fphar.2022.1076143.
16. Setiawan MR, Dewi N, Oktaviyanti IK. Extract of haruan (*Channa striata*) increases neocapillaries count in wound healing process. J Dentomaxillofac Sci. 2015;14(1):1–5. doi:10.15562/jdmfs.v14i1.416.
17. Marion-Letellier R, Savoye G, Ghosh S. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. IUBMB Life. 2015;67(9):659–667. doi:10.1002/iub.1428.
18. Kaur P, Choudhury D. Modulation of inflammatory dynamics by insulin to promote wound recovery of diabetic ulcers. In: Wound Healing. London: IntechOpen; 2020. doi:10.5772/intechopen.92096.
19. Zawawi NZM, Shaari R, Nordin ML, Hamdan RH, Peng TL, Zalati CWSCW. Antibacterial and cytotoxic activity assessment of *Channa striatus* (haruan) extract. Vet World. 2020;13(3):508–514. doi:10.14202/vetworld.2020.508-514.
20. Zakaria ZA, Mat Jais AM, Goh YM, Sulaiman MR, Somchit MN. Amino acid and fatty acid composition of an aqueous extract of *Channa striatus* (haruan) that exhibits antinociceptive activity. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2007;34(3):198–204. doi:10.1111/j.1440-1681.2007.04572.x.
21. Yin Z, Yu H, Chen S, *et al.* Asiaticoside attenuates diabetes-induced cognition deficits by regulating PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B pathway. Behav Brain Res. 2015;292:288–299. doi:10.1016/j.bbr.2015.06.024.
22. Mahmood A, Tiwari AK, Şahin K, Küçük Ö, Ali S. Triterpenoid saponin-rich fraction of *Centella asiatica* decreases IL-1 $\beta$  and NF- $\kappa$ B and augments tissue regeneration and excision wound repair. Turk J Biol. 2016;40(2):399–409. doi:10.3906/biy-1507-63.

23. Rohmayanti R, Hapsari WS. In vivo study of *Centella asiatica* (L.) Urban as a drug gel for diabetic wounds. *Medisains*. 2021;19(3):77–83. doi:10.30595/medisains.v19i3.12274.
24. 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;12:103. doi:10.1186/1472-6882-12-103.
25. Poernomo H, Setiawan DS. The effect of pegagan gel (*Centella asiatica* [L.] Urban) on wound healing processes in mice (*Mus musculus*) in vivo. *ODONTO Dent J*. 2022;9(Spec Issue 1):137–146.
26. Kwan SH, Abdul Aziz NHK, Ismail MN. Bioactive proteins in *Channa striata* promote wound healing through angiogenesis and cell proliferation. *Protein Pept Lett*. 2019;27(1):48–59. doi:10.2174/0929866526666190730121711.
27. Syed Hassan SA, Ramely R, Yahya MM, *et al*. Effect of oral *Channa striatus* in laparotomy wound healing of malnourished rats. *Int Med J*. 2020;27(1):67–70.
28. Colomer C, Marruecos L, Vert A, Bigas A, Espinosa L. NF- $\kappa$ B members left home: NF- $\kappa$ B-independent roles in cancer. *Biomedicines*. 2017;5(2):26. doi:10.3390/biomedicines5020026.
29. Ahmad S, Abbas M, Ullah MF, *et al*. Long non-coding RNAs regulated NF- $\kappa$ B signaling in cancer metastasis: micromanaging by not so small non-coding RNAs. *Semin Cancer Biol*. 2022;85:155–163. doi:10.1016/j.semcancer.2021.07.015.
30. Yu H, Lin L, Zhang Z, Zhang H, Hu H. Targeting NF- $\kappa$ B pathway for the therapy of diseases: mechanism and clinical study. *Signal Transduct Target Ther*. 2020;5(1):209. doi:10.1038/s41392-020-00312-6.
31. Bollrath J, Greten FR. IKK/NF- $\kappa$ B and STAT3 pathways: central signalling hubs in inflammation-mediated tumour promotion and metastasis. *EMBO Rep*. 2009;10(12):1314–1319. doi:10.1038/embor.2009.243.
32. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF- $\kappa$ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther*. 2017;2:17023. doi:10.1038/sigtrans.2017.23.
33. Yadav JP, Verma A, Pathak P, *et al*. Phytoconstituents as modulators of NF- $\kappa$ B signalling: investigating therapeutic potential for diabetic wound healing. *Biomed Pharmacother*. 2024;177:117058. doi:10.1016/j.biopha.2024.117058.
34. Eming SA, Krieg T, Davidson JM. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. *J Invest Dermatol*. 2007;127(3):514–525. doi:10.1038/sj.jid.5700701.

35. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res.* 2010;107(9):1058–1070. doi:10.1161/CIRCRESAHA.110.223545.
36. Raziyeve K, Kim Y, Zharkinbekov Z, Kassymbek K, Jimi S, Saparov A. Immunology of acute and chronic wound healing. *Biomolecules.* 2021;11(5):700. doi:10.3390/biom11050700.
37. Patel S, Santani D. Role of NF- $\kappa$ B in the pathogenesis of diabetes and its associated complications. *Pharmacol Rep.* 2009;61(4):595–603. doi:10.1016/S1734-1140(09)70111-2.
38. Sutterwala FS, Haasken S, Cassel SL. Mechanism of NLRP3 inflammasome activation. *Ann N Y Acad Sci.* 2014;1319(1):82–95. doi:10.1111/nyas.12458.
39. Blevins HM, Xu Y, Biby S, Zhang S. The NLRP3 inflammasome pathway: a review of mechanisms and inhibitors for the treatment of inflammatory diseases. *Front Aging Neurosci.* 2022;14:879021. doi:10.3389/fnagi.2022.879021.
40. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen.* 2008;16(5):585–601. doi:10.1111/j.1524-475X.2008.00410.x.
41. Bond M, Chase AJ, Baker AH, Newby AC. Inhibition of transcription factor NF- $\kappa$ B reduces matrix metalloproteinase-1, -3 and -9 production by vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Res.* 2001;50:556–565.42. Falanga V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot. *Lancet.* 2005;366:1736–1743.
43. Beer HD, Gassmann MG, Münz B, *et al.* Expression and function of keratinocyte growth factor and activin in skin morphogenesis and cutaneous wound repair. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 2000;5(1):34–39. doi:10.1046/j.1087-0024.2000.00009.x.
44. Chen N, Hu Y, Li WH, Eisinger M, Seiberg M, Lin CB. The role of keratinocyte growth factor in melanogenesis: a possible mechanism for the initiation of solar lentigines. *Exp Dermatol.* 2010;19(10):865–872. doi:10.1111/j.1600-0625.2009.00957.x.
45. Rossi SW, Jeker LT, Ueno T, *et al.* Keratinocyte growth factor enhances postnatal T-cell development via enhanced proliferation and function of thymic epithelial cells. *Blood.* 2007;109:3803–3811. doi:10.1182/blood-2006-10-051995.
46. Peng Y, Wu S, Tang Q, Li S, Peng C. KGF-1 accelerates wound contraction through the TGF- $\beta$ 1/Smad signaling pathway in a double-paracrine manner. *J Biol Chem.* 2019;294(21):8361–8370. doi:10.1074/jbc.RA118.006189.

47. Katoh M, Katoh M. Cross-talk of WNT and FGF signaling pathways at GSK3 $\beta$  to regulate  $\beta$ -catenin and SNAIL signaling cascades. *Cancer Biol Ther.* 2006;5(9):1059–1064. doi:10.4161/cbt.5.9.3151.
48. Liu Y, Liu Y, Deng J, Li W, Nie X. Fibroblast growth factor in diabetic foot ulcer: progress and therapeutic prospects. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:744868. doi:10.3389/fendo.2021.744868.
49. Takahashi M, Okubo N, Chosa N, *et al.* Fibroblast growth factor-1–induced ERK1/2 signaling reciprocally regulates proliferation and smooth muscle cell differentiation of ligament-derived endothelial progenitor cell-like cells. *Int J Mol Med.* 2012;29(3):357–364. doi:10.3892/ijmm.2011.847.
50. Lauzon MA, Daviau A, Marcos B, Faucheux N. Growth factor treatment to overcome Alzheimer's dysfunctional signaling. *Cell Signal.* 2015;27(6):1025–1038. doi:10.1016/j.cellsig.2015.02.018.
51. Cross MJ, Lu L, Magnusson P, *et al.* The Shb adaptor protein binds to tyrosine 766 in the FGFR-1 and regulates the Ras/MEK/MAPK pathway via FRS2 phosphorylation in endothelial cells. *Mol Biol Cell.* 2002;13(8):2881–2893. doi:10.1091/mbc.E02-02-0103.
52. Xiao L, Naganawa T, Obugunde E, *et al.* Stat1 controls postnatal bone formation by regulating fibroblast growth factor signaling in osteoblasts. *J Biol Chem.* 2004;279(26):27743–27752. doi:10.1074/jbc.M314323200.
53. Goetz R, Mohammadi M. Exploring mechanisms of FGF signalling through the lens of structural biology. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2013;14(3):166–180. doi:10.1038/nrm3528.
54. Werner S. Keratinocyte growth factor: a unique player in epithelial repair processes. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1998;9(2):153–165.
55. Auf dem Keller U, Krampert M, Kumin A, Braun S, Werner S. Keratinocyte growth factor: effects on keratinocytes and mechanisms of action. *Eur J Cell Biol.* 2004;83(11–12):607–612.
56. Maddaluno L, Urwyler C, Werner S. Fibroblast growth factors: key players in regeneration and tissue repair. *Development.* 2017;144(22):4047–4060. doi:10.1242/dev.152587.
57. Mercado AM, Padgett DA, Sheridan JF, Marucha PT. Altered kinetics of IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and KGF-1 gene expression in early wounds of restrained mice. *Brain Behav Immun.* 2002;16(2):150–162. doi:10.1006/brbi.2001.0623.
58. Peplow PV, Baxter GD. Gene expression and release of growth factors during delayed wound healing: a review of studies in diabetic animals and possible

- combined laser phototherapy and growth factor treatment to enhance healing. *Photomed Laser Surg.* 2012;30(11):617–636. doi:10.1089/pho.2012.3312.
59. Marti G, Ferguson M, Wang J, *et al.* Electroporative transfection with KGF-1 DNA improves wound healing in a diabetic mouse model. *Gene Ther.* 2004;11(24):1780–1785. doi:10.1038/sj.gt.3302383.
  60. Frank S, Hübner G, Breier G, Longaker MT, Greenhalgh DG, Werner S. Regulation of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes: implications for normal and impaired wound healing. *J Biol Chem.* 1995;270(21):12607–12613.
  61. Dasari N, Jiang A, Skochdopole A, *et al.* Updates in diabetic wound healing, inflammation, and scarring. *Semin Plast Surg.* 2021;35(3):153–158. doi:10.1055/s-0041-1731460.
  62. Hoffstad O, Mitra N, Walsh J, Margolis DJ. Diabetes, lower-extremity amputation, and death. *Diabetes Care.* 2015;38(10):1852–1857. doi:10.2337/dc15-0536.
  63. Zhang P, Lu J, Jing Y, Tang S, Zhu D, Bi Y. Global epidemiology of diabetic foot ulceration: a systematic review and meta-analysis. *Ann Med.* 2017;49(2):106–116. doi:10.1080/07853890.2016.1231932.
  64. Tai CH, Hsieh TC, Lee RP, Lo SF. Prevalence and medical resource of patients with diabetic foot ulcer: a nationwide population-based retrospective cohort study for 2001–2015 in Taiwan. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(4):1891. doi:10.3390/ijerph18041891.
  65. Everett E, Mathioudakis N. Update on management of diabetic foot ulcers. *Ann N Y Acad Sci.* 2018;1411(1):153–165. doi:10.1111/nyas.13569.
  66. Simard E, Sölleradl T, Maltais JS, Boucher J, D'Orléans-Juste P, Grandbois M. Receptor for advanced glycation end-products signaling interferes with the vascular smooth muscle cell contractile phenotype and function. *PLoS One.* 2015;10(8):e0128881. doi:10.1371/journal.pone.0128881.
  67. Deng L, Du C, Song P, *et al.* The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic wound healing. *Oxid Med Cell Longev.* 2021;2021:8852759. doi:10.1155/2021/8852759.
  68. Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocr Rev.* 2004;25(4):612–628. doi:10.1210/er.2003-0019.
  69. Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol.* 2003;17(1):24–38. doi:10.1002/jbt.10058.

70. Albers JW, Pop-Busui R. Diabetic neuropathy: mechanisms, emerging treatments, and subtypes. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2014;14(8):473. doi:10.1007/s11910-014-0473-5.
71. Nouvong A, Ambrus AM, Zhang ER, Hultman L, Collier HA. Reactive oxygen species and bacterial biofilms in diabetic wound healing. *Physiol Genomics.* 2016;48(12):889–896. doi:10.1152/physiolgenomics.00066.2016.
72. Zhao R, Liang H, Clarke E, Jackson C, Xue M. Inflammation in chronic wounds. *Int J Mol Sci.* 2016;17(12):2085. doi:10.3390/ijms17122085.
73. Gong F, Zhang Y, Cheng S, *et al.* Inhibition of TGFβ1/Smad pathway by NF-κB induces inflammation leading to poor wound healing in high glucose. *Cells Dev.* 2022;172:203814. doi:10.1016/j.cdev.2022.203814.
74. Dasu MR, Martin SJ. Toll-like receptor expression and signaling in human diabetic wounds. *World J Diabetes.* 2014;5(2):219–223. doi:10.4239/wjd.v5.i2.219.
75. Kawasaki T, Kawai T. Toll-like receptor signaling pathways. *Front Immunol.* 2014;5:461. doi:10.3389/fimmu.2014.00461.
76. Morgan MJ, Liu ZG. Crosstalk of reactive oxygen species and NF-κB signaling. *Cell Res.* 2011;21(1):103–115. doi:10.1038/cr.2010.178.
77. Kanayama A, Seth RB, Sun L, *et al.* TAB2 and TAB3 activate the NF-κB pathway through binding to polyubiquitin chains. *Mol Cell.* 2004;15(4):535–548.
78. Werner S, Breiden M, Hübner G, Greenhalgh DG, Longaker MT. Induction of keratinocyte growth factor expression is reduced and delayed during wound healing in the genetically diabetic mouse. *J Invest Dermatol.* 1994;103(4):476–483.
79. Januszyk M, Chen K, Henn D, *et al.* Characterization of diabetic and non-diabetic foot ulcers using single-cell RNA sequencing. *Micromachines (Basel).* 2020;11(9):815. doi:10.3390/mi11090815.
80. Bhan S, Mitra R, Arya AK, Pandey HP, Tripathi K. Evaluation of apoptosis and expression of Bcl-2–related marker in wound healing of streptozotocin-induced diabetic rats. *ISRN Dermatol.* 2013;2013:739054. doi:10.1155/2013/739054.
81. Shaikh-Kader A, Houreld NN, Rajendran NK, Abrahamse H. The link between advanced glycation end products and apoptosis in delayed wound healing. *Cell Biochem Funct.* 2019;37(6):432–442. doi:10.1002/cbf.3424.

82. Sengupta P. The laboratory rat: relating its age with human's. *Int J Prev Med*. 2013;4:624–630.
83. Masiello P, Broca C, Gross R, *et al*. Experimental non-insulin-dependent diabetes mellitus: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes*. 1998;47(2):224–229.
84. Ghanbari M, Salkovskiy Y, Carlson MA. The rat as an animal model in chronic wound research: an update. *Life Sci*. 2024;351:122783. doi:10.1016/j.lfs.2024.122783.
85. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in  $\beta$  cells of the rat pancreas. *Physiol Res*. 2001;50:536–546.
86. Masiello P. Animal models of type 2 diabetes with reduced pancreatic  $\beta$ -cell mass. *Int J Biochem Cell Biol*. 2006;38(5–6):873–893. doi:10.1016/j.biocel.2005.09.007.
87. Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul CL, Ramarao P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res*. 2005;52(4):313–320. doi:10.1016/j.phrs.2005.05.004.
88. Szkudelski T. Streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in the rat: characteristics of the experimental model. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2012;237(5):481–490. doi:10.1258/ebm.2012.011372.
89. Sathishsekar D, Subramanian S. Antioxidant properties of *Momordica charantia* (bitter gourd) seeds on streptozotocin-induced diabetic rats. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2005;14(2):153–158.
90. Okonkwo UA, DiPietro LA. Diabetes and wound angiogenesis. *Int J Mol Sci*. 2017;18(7):1419. doi:10.3390/ijms18071419.
91. Dewi IDAS, Fatimah N, Kuswarini S. Effect of topical gel ethanol extract of gotu kola leaf (*Centella asiatica* [L.] Urban) on wound healing in streptozotocin-induced male white rats (*Rattus norvegicus*). *Surabaya Phys Med Rehabil J*. 2023;5(2):78–83. doi:10.20473/spmrj.v5i2.47921.
92. Diniz LRL, Calado LL, Duarte ABS, de Sousa DP. *Centella asiatica* and its metabolite asiatic acid: wound healing effects and therapeutic potential. *Metabolites*. 2023;13(2):276. doi:10.3390/metabo13020276.
93. Biswas D, Mandal S, Chatterjee Saha S, *et al*. Ethnobotany, phytochemistry, pharmacology, and toxicity of *Centella asiatica* (L.) Urban: a comprehensive review. *Phytother Res*. 2021;35(12):6624–6654. doi:10.1002/ptr.7248.

94. Yao CH, Yeh JY, Chen YS, Li MH, Huang CH. Wound-healing effect of electrospun gelatin nanofibres containing *Centella asiatica* extract in a rat model. *J Tissue Eng Regen Med.* 2017;11(3):905–915. doi:10.1002/term.1992.
95. Chandrika UG, Prasad Kumara PAAS. Gotu kola (*Centella asiatica*): nutritional properties and plausible health benefits. In: *Advances in Food and Nutrition Research.* Vol 76. Amsterdam: Academic Press; 2015. p.125–157. doi:10.1016/bs.afnr.2015.08.001.
96. Sun B, Wu L, Wu Y, *et al.* Therapeutic potential of *Centella asiatica* and its triterpenes: a review. *Front Pharmacol.* 2020;11:568032. doi:10.3389/fphar.2020.568032.
97. Shukla A, Rasik AM, Jain GK, Shankar R, Kulshrestha DK, Dhawan BN. In vitro and in vivo wound healing activity of asiaticoside isolated from *Centella asiatica*. *J Ethnopharmacol.* 1999;65:1–11.
98. Liu M, Dai Y, Li Y, *et al.* Madecassoside isolated from *Centella asiatica* herbs facilitates burn wound healing in mice. *Planta Med.* 2008;74(8):809–815. doi:10.1055/s-2008-1074533.
99. Hein ZM, Gopalakrishna PK, Kanuri AK, *et al.* *Centella asiatica*: advances in extraction technologies, phytochemistry, and therapeutic applications. *Life (Basel).* 2025;15(7):1081. doi:10.3390/life15071081.
100. Bylka W, Znajdek-Awizeń P, Studzińska-Sroka E, Dańczak-Pazdrowska A, Brzezińska M. *Centella asiatica* in dermatology: an overview. *Phytother Res.* 2014;28(8):1117–1124. doi:10.1002/ptr.5110.
101. Bandopadhyay S, Mandal S, Ghorai M, *et al.* Therapeutic properties and pharmacological activities of asiaticoside and madecassoside: a review. *J Cell Mol Med.* 2023;27(5):593–608. doi:10.1111/jemm.17635.
102. Huang GJ, Huang SS, Chiu CS, *et al.* Antinociceptive activities and the mechanisms of anti-inflammation of asiatic acid in mice. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2011;2011:895857. doi:10.1155/2011/895857.
103. Sun HL, Yeom PL, So YK, *et al.* Inhibition of LPS-induced cyclooxygenase-2 and nitric oxide production by transduced PEP-1-PTEN fusion protein in RAW 264.7 macrophage cells. *Exp Mol Med.* 2008;40(6):629–638. doi:10.3858/emmm.2008.40.6.629.
104. Shukla A, Rasik AM, Dhawan BN. Asiaticoside-induced elevation of antioxidant levels in healing wounds. *Phytother Res.* 1999;13(1):50–54. doi:10.1002/(SICI)1099-1573(199902)13:1<50::AID-PTR368>3.0.CO;2-V.

105. Hsu YM, Hung YC, Hu L, Lee YJ, Yin MC. Anti-diabetic effects of madecassic acid and rotundic acid. *Nutrients*. 2015;7(12):10065–10075. doi:10.3390/nu7125512.
106. James JT, Dubery IA. Pentacyclic triterpenoids from the medicinal herb *Centella asiatica* (L.) Urban. *Molecules*. 2009;14(10):3922–3941. doi:10.3390/molecules14103922.
107. Viaña-Mendieta P, Sánchez ML, Benavides J. Rational selection of bioactive principles for wound healing applications: growth factors and antioxidants. *Int Wound J*. 2022;19(1):100–113. doi:10.1111/iwj.13602.
108. Ahmed AS, Taher M, Mandal UK, *et al.* Pharmacological properties of *Centella asiatica* hydrogel in accelerating wound healing in rabbits. *BMC Complement Altern Med*. 2019;19:262. doi:10.1186/s12906-019-2625-2.
109. Rahayu P, Marcelline F, Sulistyaningrum E, Suhartono MT, Tjandrawinata RR. Potential effect of striatin (DLBS0333), a bioactive protein fraction isolated from *Channa striata* for wound treatment. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2016;6(12):1001–1007. doi:10.1016/j.apjtb.2016.10.008.
110. Resti, Lestari I, Gamaliel E, Nasir P, Mula F. The effect of processed snakefish (*Channa striata*) on the healing process of diabetes mellitus ulcers. *J Eduhealth*. 2025;16(1). doi:10.54209/eduhealth.v16i01.
111. Ab Wahab SZ, Abdul Kadir A, Nik Hussain NH, *et al.* The effect of *Channa striatus* (haruan) extract on pain and wound healing of post-lower segment caesarean section women. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015;2015:849647. doi:10.1155/2015/849647.
112. Sahid NA, Hayati F, Rao CV, *et al.* Snakehead consumption enhances wound healing: from tradition to modern clinical practice: a prospective randomized controlled trial. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2018;2018:3032790. doi:10.1155/2018/3032790.
113. Salvo J, Sandoval C. Role of copper nanoparticles in wound healing for chronic wounds: literature review. *Burns Trauma*. 2022;10:tkab047. doi:10.1093/burnst/tkab047.
114. Umage AM, Julius P, ML. Determination of fat content and fatty acid composition of cultured and wild snakehead fish (*Channa striata*). *Chem Prog*. 2019;12(1). doi:10.35799/cp.12.1.2019.27301.
115. Stechmiller JK, Childress B, Cowan L. Arginine supplementation and wound healing. *Nutr Clin Pract*. 2005;20(1):52–61.

116. Li P, Wu G. Roles of dietary glycine, proline, and hydroxyproline in collagen synthesis and animal growth. *Amino Acids*. 2018;50(1):29–38. doi:10.1007/s00726-017-2490-6.
117. Wischmeyer PE. Glutamine: mode of action in critical illness. *Crit Care Med*. 2007;35(9 Suppl):S541–S544. doi:10.1097/01.CCM.0000278064.32780.D3.
118. Ilyas S, Hanafiah OAV, HG AA. The effect of snakehead fish (*Channa striata*) extract on dry socket wound healing: TGF- $\beta$ 1 expression in a rat model. *Bioscientia Med*. 2024;8(7):4639–4647. doi:10.37275/bsm.v8i7.1035.
119. Iizaka S, Sanada H, Matsui Y, *et al*. Serum albumin level is a limited nutritional marker for predicting wound healing in patients with pressure ulcer: two multicenter prospective cohort studies. *Clin Nutr*. 2011;30(6):738–745. doi:10.1016/j.clnu.2011.07.003.
120. Stechmiller JK. Understanding the role of nutrition and wound healing. *Nutr Clin Pract*. 2010;25(1):61–68. doi:10.1177/0884533609358997
121. Bouillanne O, Hay P, Liabaud B, Duché C, Cynober L, Aussel C. Evidence that albumin is not a suitable marker of body composition–related nutritional status in elderly patients. *Nutrition*. 2011;27(2):165–169. doi:10.1016/j.nut.2009.12.007.
122. Hadisaputro S, Sunarjo L. Effectiveness of hydrogel from snakehead fish extract (*Channa striata*) on wound healing of grade II ulcers in patients with type 2 diabetes mellitus. *Int J Nurs Health Serv*. 2021;4(2):215–222. doi:10.35654/ijnhs.v4i2.437.
123. Guo S, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res*. 2010;89(3):219–229. doi:10.1177/0022034509359125.
124. Pasha MA, Husin RA, Hassan S. The influence of oral and topical *Channa striatus* on laparotomy wound healing in malnourished Wistar rats. *Int J Pharm Sci Invent*. 2015;4(5):37–41.
125. Qiu J, Yu L, Zhang X, *et al*. Asiaticoside attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via down-regulation of NF- $\kappa$ B signaling pathway. *Int Immunopharmacol*. 2015;26(1):181–187. doi:10.1016/j.intimp.2015.03.022.
126. Niu J, Chang Z, Peng B, *et al*. Keratinocyte growth factor/fibroblast growth factor-7–regulated cell migration and invasion through activation of NF- $\kappa$ B transcription factors. *J Biol Chem*. 2007;282(9):6001–6011. doi:10.1074/jbc.M606878200.

127. Peppia M, Vlassara H. Advanced glycation end products and diabetic complications: a general overview. *Hormones (Athens)*. 2005;4(1):28–37.
128. Xu F, Zhang C, Graves DT. Abnormal cell responses and role of TNF- $\alpha$  in impaired diabetic wound healing. *Biomed Res Int*. 2013;2013:754802. doi:10.1155/2013/754802.
129. Lerman OZ, Galiano RD, Armour M, *et al*. Cellular dysfunction in the diabetic fibroblast: impairment in migration, vascular endothelial growth factor production, and response to hypoxia. *Am J Pathol*. 2003;162(1):303–312.
130. Falanga V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot. *The Lancet*. 2005;366:1736–1743.
131. Werner S, Peters KG, Longaker MT, Fuller-Pace F, Banda MJ, Williams LT. Large induction of keratinocyte growth factor expression in the dermis during wound healing. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89:6896–6900.
132. Abdulgani N, Trisnawati I, Hidayati D, Aisyatussoffi N, Arifiyanto A. Snakehead (*Channa striata*) extract treatment on blood glucose levels and pancreatic histology in hyperglycemic mice (*Mus musculus*). *J Appl Environ Biol Sci*. 2014;4(5):1–6.
133. Patil KR, Mohapatra P, Patel HM, *et al*. Pentacyclic triterpenoids inhibit IKK $\beta$ -mediated activation of NF- $\kappa$ B pathway: in silico and in vitro evidences. *PLoS One*. 2015;10(5):e0125709. doi:10.1371/journal.pone.0125709.
134. Siswanto A, Dewi N, Hayatie L. Effect of haruan (*Channa striata*) extract on fibroblast cells count in wound healing. *J Dentomaxillofac Sci*. 2016;1(2):82–87. doi:10.15562/jdmfs.v1i2.3
135. Shivananjappa M, Meghana HD, Manasa R, Santosha DU, Shekhara Naik R. Wound healing activity of *Centella asiatica*. *IP J Nutr Metab Health Sci*. 2023;6(1):1–6. doi:10.18231/j.ijnmhs.2023.001.
136. Savino F, Calvi C, Gambarino S, Dini M, Pau A, Montanari P, *et al*. Differential NF- $\kappa$ B mRNA expression in blood and buccal mucosa of pediatric patients with RSV bronchiolitis. *Genes (Basel)*. 2025;16(8):851. doi:10.3390/genes16080851.
137. Tang A, Gilchrist BA. Regulation of keratinocyte growth factor gene expression in human skin fibroblasts. *J Dermatol Sci*. 1996;12(1):41–50.
138. Mothes J, Busse D, Kofahl B, Wolf J. Sources of dynamic variability in NF- $\kappa$ B signal transduction: a mechanistic model. *BioEssays*. 2015;37(4):452–462. doi:10.1002/bies.201400113.