

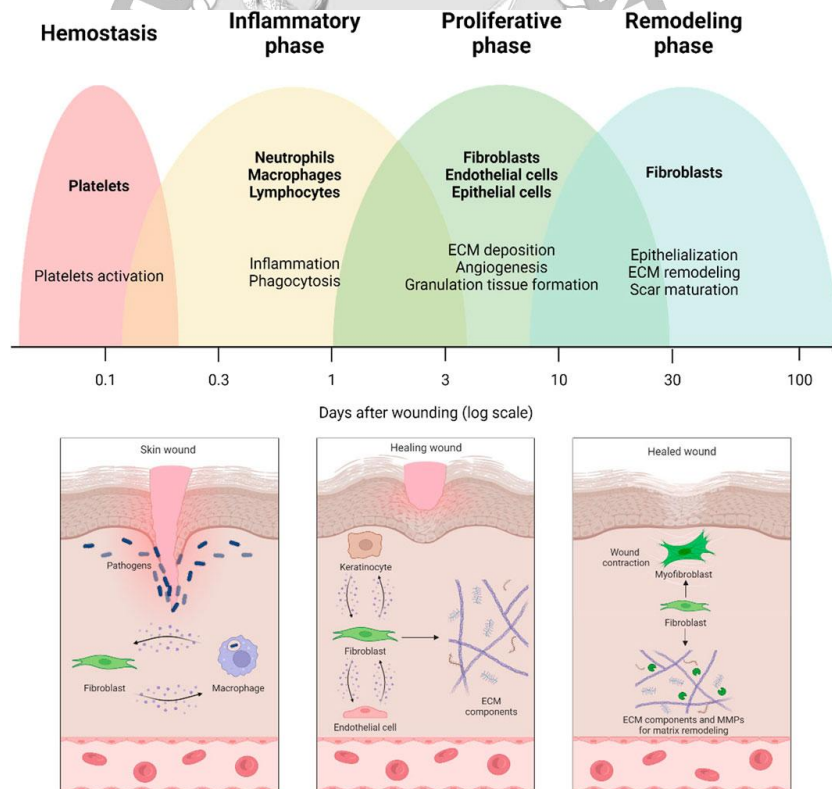
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Landasan Teori

2.1.1 Konsep Dasar Penyembuhan Luka

Luka adalah kondisi dimana kontinuitas struktur anatomi jaringan tubuh terputus mulai dari epitel kulit hingga jaringan ikat (Primadina et al., 2019). Luka merupakan salah satu masalah kesehatan yang sering dihadapi oleh prajurit TNI di daerah operasi. Menurut Mercandetti (2024), ada empat tahapan penyembuhan luka seperti yang terlihat pada Gambar 2.1, yaitu :



Gambar 2.1 Skema Penutupan Luka
Sumber : Cialdai et al., 2022

a. Hemostasis

Hemostasis merupakan fase awal penyembuhan luka, yang berfokus pada penghentian perdarahan. Tubuh merespons dengan mengaktifkan faktor koagulasi intrinsik dan ekstrinsik untuk menghentikan perdarahan. Reaksi ini terjadi akibat kontak langsung antara darah yang keluar dari kulit dan kolagen dalam matriks ekstraseluler. Hal ini menyebabkan pelepasan trombosit, yang mengekspresikan glikoprotein pada membrannya, sehingga memudahkan pelekatan trombosit satu sama lain dan mengakibatkan pembentukan bekuan. Massa ini menempati rongga luka dan membentuk matriks sementara yang berfungsi sebagai perancah bagi migrasi sel inflamasi selama fase inflamasi (Landén et al., 2016).

b. Inflamasi

Peradangan adalah fase penyembuhan luka yang ditandai dengan respons tubuh yang meningkatkan aliran darah ke area yang terkena, menyebabkan kemerahan, peningkatan suhu, dan pembengkakan. Hal ini dilakukan untuk menghilangkan jaringan nekrotik dan mencegah infeksi oleh mikroorganisme patogen. Sel-sel antibodi, seperti neutrofil, limfosit, dan makrofag, berpindah ke lokasi luka untuk melawan infeksi dan menghilangkan sisa-sisa matriks seluler serta partikel asing.

c. Proliferasi

Proliferasi yaitu tahapan tubuh mulai membangun kembali jaringan yang rusak dan berlangsung selama beberapa minggu dengan sel fibroblas menjadi peran utama.

d. *Remodeling*

Remodeling yaitu tahapan untuk mematangkan dan memperkuat jaringan yang baru terbentuk dan dapat terjadi selama beberapa bulan hingga beberapa tahun.

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi penyembuhan luka. Faktor-faktor tersebut terbagi menjadi dua bagian, yaitu faktor intrinsik dan faktor ekstrinsik. Faktor intrinsik merupakan faktor yang berhubungan dengan tubuh yang tidak dapat diubah. Faktor intrinsik meliputi usia, genetika,

hormon, dan penyakit sistemik. Faktor ekstrinsik meliputi obat-obatan, nutrisi, stres dan peningkatan kadar kortisol, kurangnya waktu istirahat, merokok, alkohol, biofilm, infeksi, dan obesitas.

2.1.2 Peran Fibroblas dalam Penyembuhan Luka

Fibroblas berperan sebagai kunci keberhasilan pembentukan jaringan baru. Hal tersebut dikarenakan fibroblas merupakan bagian dari jaringan ikat yang menyatukan seluruh tubuh manusia. Menurut Kendall dan Feghali-Bostwick (2014), fibroblas sendiri merupakan penghasil protein struktural *Extracellular Matrix* (ECM), protein perekat (*laminin* dan *fibronectin*), serta substansi dasar (*glikosaminoglikan*). Selain itu, fibroblas juga berperan penting dalam pemeliharaan dan penyerapan kembali ECM, penyembuhan luka, peradangan, angiogenesis, dan perkembangan kanker.

Fibroblas memainkan peran penting dalam proses penyembuhan luka. Ketika terjadi kerusakan, tubuh memicu respons inflamasi melalui sitokin yang diproduksi dari degranulasi platelet. Akibatnya, tubuh meningkatkan konsentrasi mediator pro-inflamasi, khususnya *interleukin-1* (IL-1), *interleukin-6* (IL-6), *interleukin-12* (IL-12), *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), dan *Inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS) melalui sel-sel imun untuk memicu respons inflamasi dan merangsang aktivasi fibroblas. Peranan fibroblas dalam tahap inflamasi, antara lain :

- a. Cedera memicu terjadinya reaksi inflamasi melalui sitokin yang berasal dari adanya degranulasi trombosit
- b. Sel imun akan meningkatkan kadar mediator pro-inflamasi, yaitu *interleukin-1* (IL-1), *interleukin-6* (IL-6), *interleukin-12* (IL-12), *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), *Inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS) hal ini memicu proses inflamasi dan merangsang aktivasi fibroblas
- c. Fibroblas yang teraktifasi akan terlibat dalam *crosstalk* yang dapat memperkuat respons imun lokal dan aktivitas sel imun dalam beberapa cara, yaitu :

1. Memproduksi sitokin pro-inflamasi, yaitu $\text{TNF-}\alpha$, *Interferon Gamma* ($\text{IFN-}\gamma$), IL-6, dan IL-12 (Donovan et al., 2021)
2. Melepaskan kemokin C-C dan C-X-C yang dapat menarik dan mengarahkan sel imun ke lokasi cedera (Hernández et al., 2017)
3. Terjadi interaksi jukstakrin melalui ekspresi molekul-molekul seperti *Intercellular Adhesion Molecule 1* (ICAM1) dan *Cluster of Differentiation-40* (CD40) pada permukaan fibroblas untuk mengaktivasi sel dendritik
4. Terjadi perombakan stroma luka dengan sekresi *Matrix metalloproteinase* (MMP) untuk mempercepat infiltrasi dan aktivasi sel imun yang penting untuk sterilisasi jaringan dari patogen dan memulai proliferasi penyembuhan luka yang lebih optimal
5. Adanya perubahan aliran interstisial dan tekanan cairan yang disebabkan oleh edema inflamasi dan merespons dengan modulasi sifat fisik lingkungan mikro yang membuat fibroblas menjadi lebih aktif secara imunologis (Donovan et al., 2021)
6. Fibroblas kemudian bermigrasi secara kolektif ke daerah luka, sehingga dapat mentranslokasi ECM dengan sel imunitas tubuh

Fibroblas terlibat dalam fase inflamasi dan proliferaatif. Awalnya, fibroblas dalam gumpalan fibrin berpindah ke lokasi luka, dipandu oleh mediator inflamasi termasuk *C5a fibronectin*, *platelet-derived growth factor* (PDGF), *fibroblas growth factor* (FGF), dan *transforming growth factor- β* (TGF- β) (Thulabandu et al., 2018). Fibroblas mulai berproliferasi setelah tiba di lokasi luka. Fibroblas berperan penting dalam angiogenesis dan pembentukan jaringan granulasi. Fibroblas mengeluarkan faktor pro-angiogenik, termasuk *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *fibroblas growth factor* (FGF), *angiopoietin 1* (Ang-1), dan *trombospondin* (TSP), untuk memfasilitasi angiogenesis selama fase proliferasi.

Fibroblas yang distimulasi oleh faktor pertumbuhan dari makrofag dan sel imunitas tubuh lainnya menghasilkan *MMP* (Mirastschijski et al., 2012). *MPP* ini mendegradasi bekuan fibrin yang memungkinkan adanya migrasi

sel-sel lain misalnya *keratinosit* untuk re-epitelisasi. Fibroblas juga menghasilkan molekul ECM seperti fibronektin, asam hialuronat, proteoglikan, dan kolagen tipe III (Mirastschijski et al., 2012). Molekul-molekul ini menggantikan bekuan fibrin dengan matriks sementara baru yang dapat mendukung migrasi *keratinosit*. Setelah kurang lebih 4 hari setelah cedera, TGF- β dan CXCL8 merangsang diferensiasi fibroblas menjadi miofibroblas (Desmoulière et al., 2005). Miofibroblas sangat berperan penting dalam tahap *remodeling* dengan kontraksi luka.

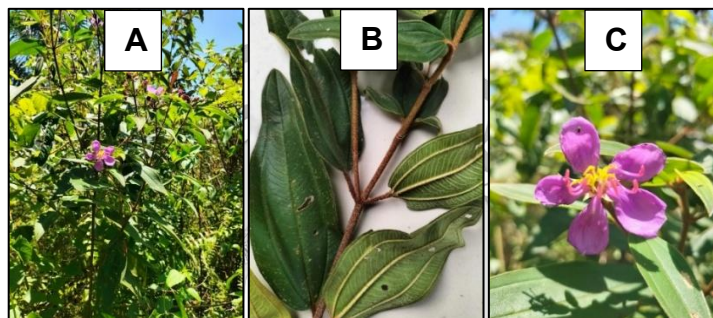
Fibroblas juga dapat dihambat sepanjang proses penyembuhan luka. Aktivitas fibroblas dihambat oleh stres oksidatif yang disebabkan oleh peningkatan kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS). *Reactive Oxygen Species* (ROS) dihasilkan oleh sel-sel pro-inflamasi, termasuk neutrofil dan makrofag. Neutrofil dan makrofag yang teraktivasi kemudian melepaskan sitokin pro-inflamasi (Komariah et al., 2023).

2.1.3 Tanaman Senggani (*Melastoma malabathricum*)

Melastoma malabathricum, yang dikenal sebagai Senggani (Kalimantan), Senduduk (Kalimantan), Bukakang (Kalimantan), atau Kemanden (Java), adalah spesies tumbuhan berbunga berbentuk semak herba. Tumbuhan ini tumbuh subur di daerah tropis, khususnya di Asia Tenggara, meliputi Malaysia, Indonesia, dan beberapa wilayah Kepulauan Pasifik. Secara umum, tumbuhan ini berkembang baik di daerah lembap dan hutan terbuka. Tanaman ini dapat tumbuh sampai ketinggian 1 meter hingga 5 meter seperti pada Gambar 2.2 (A).

Melastoma malabathricum memiliki batang bercabang berwarna kemerahan dan ditutupi oleh sisik halus. Tanaman ini memiliki percabangan batang simpodial. Memiliki pertulangan daun melengkung, dengan panjang antara 4 cm hingga 14 cm, dengan lebar daun antara 0,25 hingga 2 inci, dan memiliki 3 hingga 5 urat daun yang terlihat jelas seperti yang terlihat pada Gambar 2.2 (B). Bunga dari tanaman Senggani yang tampak pada Gambar 2.2 (C) memiliki warna merah muda keunguan yang muncul dalam

kelompok di ujung cabang dengan besar mahkota bunga antara 4 hingga 5 cm. Buah dari tanaman ini berupa beri yang ketika matang akan pecah dan mengeluarkan daging buah yang memiliki warna ungu gelap dan biji berwarna oranye. Akar pada tanaman ini memiliki sistem akar tunggang yang relatif lurus dengan adanya beberapa akar kecil yang muncul (Parthana & Rituraj, 2023; Suleiman et al., 2018; Wong, 2015).



Gambar 2.2 Morfologi dari *Melastoma malabathricum*. (A) Perawakan dari *Melastoma malabathricum*. (B) Daun dari *Melastoma malabathricum*. (C) Bunga dari *Melastoma malabathricum*

Menurut Suleiman et al. (2018), klasifikasi tanaman senggani adalah sebagai berikut :

- a. Kingdom : Plantae
- b. Divisi : Magnoliophyta
- c. Kelas : Magnoliopsida
- d. Ordo : Myrtales
- e. Famili : Melastomataceae
- f. Genus : Melastoma
- g. Spesies : *Melastoma malabathricum*

Tanaman ini digunakan oleh masyarakat Suku Dayak untuk penyembuh luka saat di hutan. Daun tanaman senggani dikunyah, lalu daunnya diletakkan pada luka. Daun ini dipercaya bisa menyembuhkan luka dengan cepat. Penelitian yang telah dilakukan pada tanaman senggani (*Melastoma malabathricum*) menunjukkan bahwa tanaman ini mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan terpenoid. Menurut (Hosni et al., 2023), senyawa aktif pada tanaman *Melastoma malabathricum* yang memiliki potensi *wound healing* adalah *gallic acid*, *quercetin*, dan *kaempferol*. Beberapa senyawa

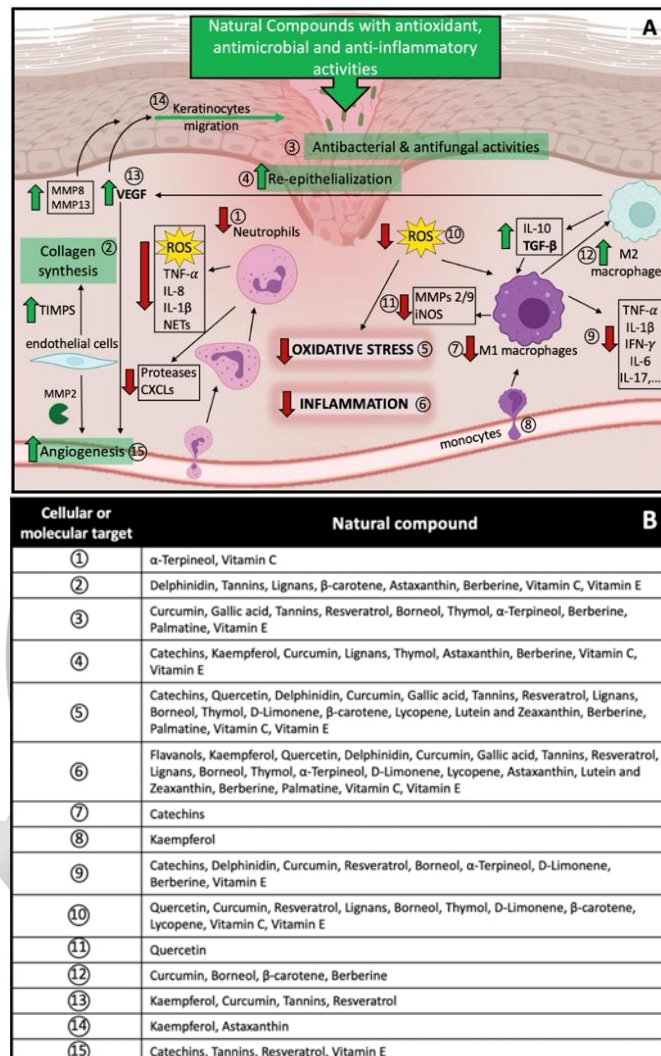
lain yang ditemukan seperti (25*R*)-26-*O*- β -*D* Glucopyranosyl-5 β -furost-20(22)-*en*-3 β ,26-diol-3-*O*-[β -*D* glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- β -*D*-glucopyranoside, Prosapogenin 5 (Julibroside A1), Meso-inositol, Macrostemonoside D, dan lain sebagainya (Schilrreff & Alexiev, 2022).

2.1.4 Hubungan Senyawa Aktif Dengan Penyembuhan Luka

Penggunaan tanaman herbal sebagai obat penyembuh luka, baik luka sayat maupun luka bakar, sudah dilakukan oleh masyarakat pada zaman dahulu. Pengobatan tersebut tergolong lebih aman dan harganya murah. Selain itu, pengobatan menggunakan herbal juga lebih mudah digunakan. Hal tersebut terjadi karena tanaman herbal mudah didapatkan.

Bagian tanaman herbal yang berperan dalam penyembuhan luka adalah senyawa aktifnya. Senyawa aktif tersebut misalnya senyawa *alkaloid*, minyak atsiri, *flavonoid*, *tanin*, *terpenoid*, *saponin*, dan senyawa *fenolik* (Edeoga et al., 2005). Senyawa aktif tersebut ada yang bersifat anti inflamasi, anti mikroba, antioksidan, dan lain sebagainya. Penelitian terus dilakukan untuk menemukan obat baru yang efektif untuk penyembuhan luka.

Daun senggani memiliki senyawa aktif berupa *flavonoid* yang berupa *quercetin* dan *kaempferol*. Selain itu, daun senggani juga memiliki senyawa aktif golongan *fenolik* berupa asam galat. Terdapat skema penyembuhan luka pada Gambar 2.3. Skema tersebut menjelaskan bahwa senyawa aktif berupa *kaempferol* memiliki sifat anti inflamasi, meningkatkan produksi VEGF untuk membantu proses angiogenesis, dan meningkatkan migrasi keratinosit. *quercetin* memiliki sifat anti inflamasi, membantu menurunkan stres oksidatif dengan cara menurunkan ROS, mendukung sintesis gen *MMPs* 2/9, dan menstabilkan gen *iNOS*. Asam galat memiliki sifat antibakteri, anti fungi, anti inflamasi, dan membantu menurunkan stres oksidatif dengan menurunkan kadar ROS dan menstabilkan kadar sitokin pro-inflamasi.



Gambar 2.3 Representasi grafis dari luka kronis yang terinfeksi yang diobati dengan senyawa bioaktif alami. **(A)** Jalur molekuler dan target utama yang dipengaruhi oleh senyawa alami yang dijelaskan dalam naskah ditunjukkan. Anak panah menunjukkan efek pada target setelah pengobatan. **(B)** Senyawa aktif dan kode untuk target molekuler.

Sumber : Schilrreff & Alexiev, 2022

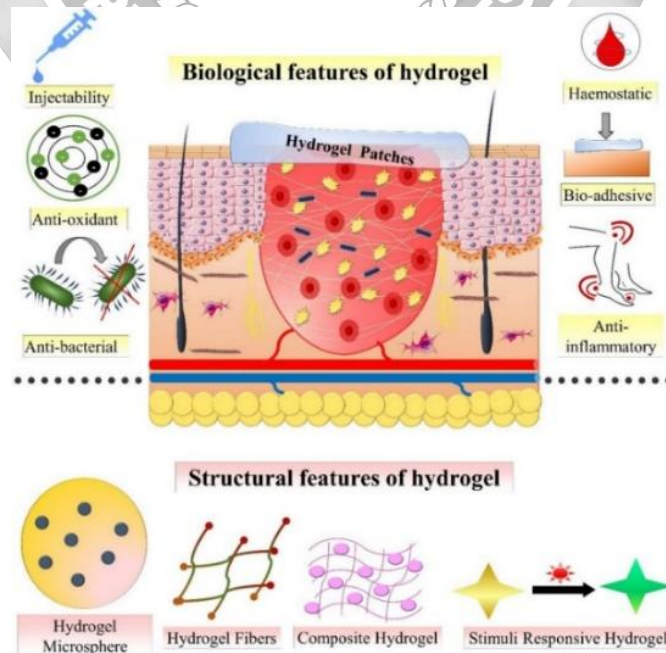
2.1.5 Hidrogel

Hidrogel merupakan material polimer yang memiliki kemampuan untuk menyimpan cairan atau senyawa aktif dalam jumlah yang cukup banyak dan melepaskannya sesuai kebutuhan. Selain itu, hidrogel juga berperan sebagai anti-inflamasi karena sifatnya yang dapat menahan suhu rendah, seperti pada Gambar 2.4. Hidrogel yang digunakan berbahan dasar alginat

dan nano selulosa. Alginat dan nano selulosa yang digunakan merupakan bahan komersial yang mudah didapatkan.

Nano selulosa adalah partikel selulosa berukuran nano yang memiliki kualitas mekanik lebih baik daripada selulosa pada umumnya (Amirudin et al., 2024). Partikel nano ini berasal dari dinding tumbuhan. Nano selulosa ini memiliki biokompatibilitas dan biodegradabilitas yang cukup baik untuk aplikasi medis (Fahma et al., 2022).

Alginat adalah polimer yang berasal dari bahan alam, yang didapatkan dengan cara diekstrak. Alginat ini biasa didapatkan dari rumput laut yang diekstraksi (Jayanudin et al., 2014). Alginat ini sering kali digunakan dalam bahan dasar membuat hidrogel karena sifatnya yang akan memadat saat dicampurkan dengan ion kalsium (Kamisyah et al., 2020). Sifatnya yang larut air serta memiliki biokompatibel yang cukup baik membuat alginat ini cocok menjadi bahan dasar hidrogel untuk bidang medis terutama dalam penyembuhan luka.



Gambar 2.4 Fungsi Hidrogel
Sumber : Solanki et al., 2023

2.1.6 Metode Uji Efektivitas *Wound Healing* Secara *In Vitro*

Sel fibroblas merupakan sel yang mempunyai potensi proliferasi sama dengan *Mesenchymal Stem Cells*. Sel fibroblas juga memiliki penanda molekuler yang mirip dengan MSC. Sel fibroblas ada di setiap jaringan manusia, dapat mendukung penyembuhan luka, dan mewakili potensi sel yang heterogen. Ada berbagai sumber yang menyatakan juga bahwa sel fibroblas ini tidak bisa terdiferensiasi menjadi sel osteosit, khondrosit, dan adiposit (Denu et al., 2016).

Uji *in vitro* dilakukan menggunakan sel fibroblas dengan memperhatikan beberapa aspek penyembuhan luka, yaitu migrasi sel, adanya toksisitas herbal, dan jumlah sel hidup (Eske, 2023). Sel fibroblas yang digunakan adalah dari preputium atau sampah bekas sunat. Sel yang digunakan sudah diisolasi terlebih dahulu oleh peneliti sebelumnya. Metode yang digunakan peneliti sebelumnya untuk mengisolasi sel fibroblas adalah dengan metode eksplan. Sel fibroblas ini akan digunakan untuk uji *wound scratch*, *Microculture Tetrazolium Technique* (MTT), dan RT-qPCR.

Uji *wound scratch* adalah teknik *in vitro* untuk menganalisis mekanisme migrasi sel (Jonkman et al., 2014). Migrasi sel dilakukan untuk mempertahankan fitur sinyal seluler. Sel-sel bermigrasi dari tepi luka ke dalam luka selama fase penyembuhan untuk memulihkan integrasi jaringan (Grada et al., 2017). Ghasemi et al. (2021) menyatakan bahwa teknik kolorimetrik *Microculture Tetrazolium Technique* (MTT) mengukur aktivitas metabolik sel untuk menilai toksisitas obat. Setelah dicampurkan ke dalam kultur sel, reagen MTT diubah oleh sel yang masih hidup menjadi kristal formazan ungu. Kristal formazan, yang tidak larut dalam air, kemudian dilarutkan dalam *dimethyl sulfoxide* (DMSO) sebagai pelarut. Intensitas warna kemudian diukur dengan spektrofotometri untuk menentukan jumlah sel yang masih hidup.

2.2. Hasil Penelitian Terdahulu

Terdapat beberapa penelitian yang serupa atau mendekati dari penelitian yang akan dilakukan. Penelitian yang serupa atau mendekati ini selanjutnya dapat dijadikan acuan untuk pengerjaan penelitian yang akan dilakukan.

Tabel 2.1 Hasil Penelitian Sebelumnya

No	Judul	Nama Penulis	Tujuan	Metode	Hasil	Persamaan	Perbedaan
1.	<i>A Novel In Vitro Wound Healing Assay to Evaluate Cell Migration</i>	(Cappiello et al., 2018)	Tujuan dari penelitian ini adalah mengevaluasi efek <i>Anti Microbial Peptides</i> (AMP) pada migrasi sel, khususnya berfokus pada	Uji ini menggunakan sisipan kultur silikon untuk membuat bidang luka semu, yang menawarkan metode yang lebih tepat dan dapat	Penggunaan sisipan kultur silikon memungkinkan area luka yang terdefinisi dengan baik karena lebih presisi. AMP secara signifikan	Mendapatkan luasan penutupan luka.	Menggunakan metode baru, menggunakan pemberian EGFR, Sel yang diuji.

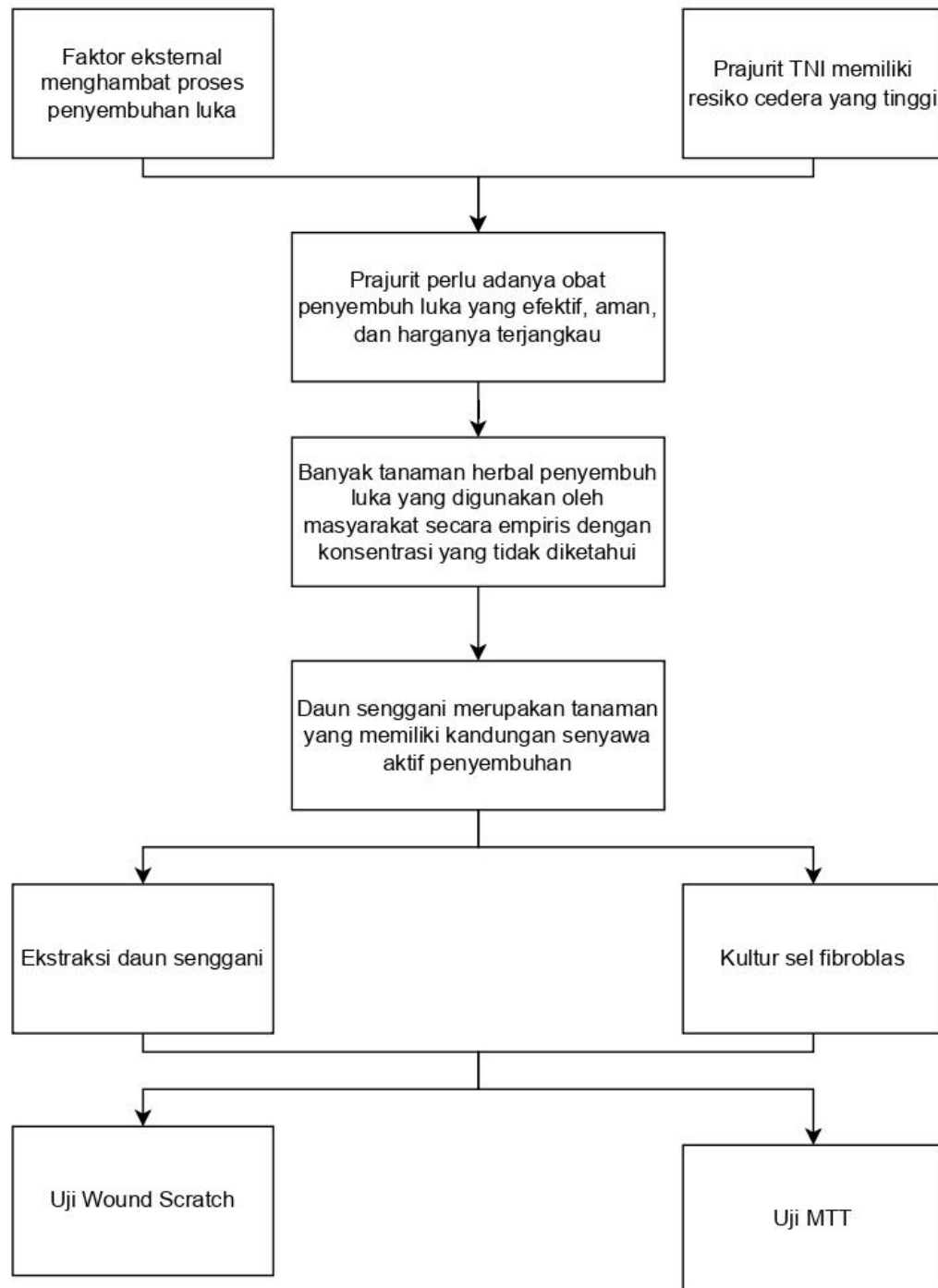
No	Judul	Nama Penulis	Tujuan	Metode	Hasil	Persamaan	Perbedaan
			sel epitel bronkial.	direproduksi dibandingkan dengan uji goresan tradisional.	mendorong penutupan luka. Pemberian inhibitor EGFR menghasilkan pengurangan signifikan dalam migrasi sel.		
2.	<i>Optimized Wound Scratch Assay for In Vitro Testing of Cell Migration</i>	(Mouritzen & Jenssen, 2018)	Tujuan dari penelitian ini adalah menyelidiki dampak <i>Epidermal Growth Factor</i>	Penelitian ini mengoptimalkan metode uji <i>wound scratch</i> dalam menguji migrasi sel	Metode uji menggunakan pemberian mitomisin C memberikan cara yang optimal untuk	Menggunakan uji <i>wound scratch</i> .	Sel uji, ekstrak yang diuji, dan mikroskop yang digunakan.

No	Judul	Nama Penulis	Tujuan	Metode	Hasil	Persamaan	Perbedaan
	<i>with an Automated Optical Camera</i>		(EGF), Laktoferin, dan Laktoferisin pada migrasi sel keratinosit HaCaT dan penyembuhan luka menggunakan metode uji gores yang dioptimalkan menggunakan pemberian <i>mitomycin C</i> .	(HaCaT) menggunakan mikroskop. Penelitian ini menggunakan <i>mitomycin C</i> untuk menghambat proliferasi sel sehingga yang terdeteksi adalah migrasi sebenarnya dan bukan proliferasi.	mempelajari migrasi sel. Pemberian EGF, Laktoferin dan Laktoferisin juga berkontribusi positif untuk penyembuhan luka.		

No	Judul	Nama Penulis	Tujuan	Metode	Hasil	Persamaan	Perbedaan
3.	<i>Evaluation of Wound Closure Activity of Nigella sativa, Melastoma malabathricum, Pluchea indica, and Piper sarmentosum Extracts on Scratched Monolayer of Human Gingival Fibroblast</i>	(Rahman et al., 2014)	Penelitian ini bertujuan untuk menilai efek ekstrak pada proliferasi HGF, sintesis kolagen, dan aktivitas penutupan luka.	Pengukuran yang dilakukan pada penelitian ini adalah proliferasi sel dan wound closure, sintesis kolagen, ekspresi faktor pertumbuhan pada ELISAreader, aktivitas antioksidan.	Ekstrak herbal menawarkan sifat anti mikroba dan antioksidan alami yang membantu penyembuhan lebih cepat dan lebih efektif.	Ekstrak tanaman yang digunakan, beberapa metode pengukuran	Hanya ada 1 konsentrasi yang digunakan

2.3. Kerangka Berpikir

Berikut merupakan kerangka berpikir yang digunakan sebagai acuan untuk melaksanakan penelitian ini.



Gambar 2.5 Kerangka Berpikir

2.4. Hipotesis

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi dampak ekstrak daun senggani (*Melastoma malabathricum*) terhadap migrasi sel fibroblas, komponen penting dalam proses penyembuhan luka. Hipotesis nol (H_0) menyatakan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan secara statistik dalam proses penyembuhan luka antara kelompok perlakuan hidrogel dengan ekstrak daun senggani dan kelompok kontrol. Hipotesis alternatif (H_1) menyatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dalam penyembuhan luka antara kelompok perlakuan hidrogel dengan ekstrak daun senggani dan kelompok kontrol, menunjukkan bahwa ekstrak ini secara positif mempengaruhi aktivitas sel yang diperlukan untuk regenerasi jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan efektivitas ekstrak daun senggani dalam meningkatkan migrasi sel fibroblas dibandingkan dengan kelompok kontrol.