

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pemanfaatan tanaman sebagai bahan baku obat herbal sudah menjadi kebudayaan bangsa Indonesia. Menurut Riskesdas 2018, sekitar 31,4% masyarakat Indonesia memanfaatkan pelayanan kesehatan tradisional (Yankestrad) dan 12,9% melakukan upaya sendiri seperti membuat ramuan tradisional, membeli jamu gendong, atau menggunakan taman obat keluarga (TOGA) (Kasaluhe dkk. 2022). Masyarakat Bali menggunakan tanaman herbal sebagai pengobatan dan bagian dari sarana upacara keagamaan. Wilayah Danau Buyan dan Tamblingan telah tercatat ada 69 jenis tumbuhan yang dimanfaatkan untuk tujuan pengobatan (Biyatmoko dkk. 2023). Data ini menunjukkan bahwa obat tradisional masih dipilih oleh banyak orang di Indonesia untuk mengobati penyakit dan meningkatkan kesehatan. Penggunaan tanaman herbal tradisional sebagai bahan baku obat lebih diminati karena dinilai bersifat alami sehingga memiliki efek samping yang lebih rendah dibandingkan obat kimia (Grenvilco dkk. 2023).

Luka didefinisikan sebagai kondisi diskontinuitas struktur anatomis tubuh mulai dari lapisan subkutis, otot, tulang, serta jaringan lain disekitarnya meliputi pembuluh darah, saraf, dan tendon yang biasa disebabkan oleh karena trauma. Dalam lingkup Ilmu Bedah Mulut, luka bedah dapat berupa insisi dan luka eksisi. Luka insisi digolongkan sebagai luka akut dan sembuh dalam

beberapa waktu. Proses penyembuhan luka dapat terhambat apabila terjadi invasi bakteri melalui luka terbuka (Olutoye dkk. 2024).

Infeksi Luka Operasi (ILO) adalah infeksi yang terjadi pada area insisi pada pasien setelah prosedur pembedahan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ILO dapat meningkatkan waktu inap pasien di rumah sakit, antara 1,5 hingga 16,6 hari. Di Indonesia, prevalensi ILO diperkirakan berkisar antara 2,3% hingga 18,3% dan merupakan jenis infeksi nosokomial yang paling sering terjadi, menyumbang 38% dari total infeksi yang terkait dengan perawatan kesehatan. Infeksi merupakan salah satu faktor penghambat penyembuhan luka. Peningkatan kebutuhan nutrisi pada jaringan dapat membantu mempercepat penyembuhan luka (Nou Howaldt dkk. 2025).

Penyembuhan luka merupakan suatu proses kompleks dan tersusun dengan ketat yang memiliki tujuan untuk mempertahankan fungsi barrier kulit sekaligus menjaga fungsi kulit lainnya. Penyembuhan luka dapat dicapai melalui tiga proses biologis yang saling berhubungan, yaitu hemostasis dan inflamasi, proliferasi, dan remodeling jaringan. Faktor nutrisi dan lingkungan dapat mempengaruhi lama proses penyembuhan luka. Respon peradangan dianggap berperan penting sebagai pemasok sinyal *growth factor* dan sitokin yang mengatur pergerakan sel dan jaringan yang diperlukan untuk perbaikan luka (Krishnaswamy dkk. 2017).

Fase peradangan adalah tahap penting dalam penyembuhan luka. Proses ini membantu hemostasis dan melibatkan sel-sel leukosit yang bergerak melalui darah. Leukosit berfungsi sebagai pertahanan tubuh pertama, membantu mengatasi kerusakan pada epidermis dan dermis yang belum

terbentuk. Sel monosit, yang muncul pada hari ke-3 hingga ke-5, berkembang menjadi makrofag. Makrofag memainkan peran penting dalam peralihan dari fase inflamasi ke fase penyembuhan, dengan mengeluarkan sitokin seperti TNF- α , yang menyebabkan pembuluh darah di sekitar luka melebar, memungkinkan sel darah putih lainnya bergerak ke area yang terluka. Peradangan yang berkepanjangan yang disertai dengan kekurangan oksigen dapat mempertinggi risiko dari kerusakan jaringan dan kolonisasi bakteri yang dapat menyebabkan infeksi pada luka (Stupin dkk. 2020).

Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) merupakan sitokin pro-inflamasi yang memegang peranan penting dalam sistem imun. Konsentrasinya meningkat pada fase ini sering dikaitkan dengan respon inflamasi dengan tujuan menyingkirkan patogen dan sel-sel mati di area luka. TNF- α akan menjaga hemostasis sistem imun dengan mengikat reseptor permukaan sel. TNF- α bertugas dalam merekrut sel imun ke lokasi luka dan mengaktifkan proliferasi fibroblas dan pembuluh darah, pembentukan keratinosit, dan ekspresi faktor pertumbuhan. TNF- α dapat menginduksi produksi mediator inflamasi lainnya, fungsi ini dapat melawan infeksi, menginisiasi respon imun, serta perbaikan jaringan yang telah rusak. Peningkatan TNF- α yang tidak terkendali dapat menyebabkan peradangan kronis dan kerusakan jaringan yang lebih parah (Cao dkk. 2024). Kadar TNF- α pada suatu luka, dapat diidentifikasi dengan dilakukan pemeriksaan metode ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*).

Tanaman yang dipercaya memiliki senyawa antiinflamasi salah satunya adalah cengkeh. Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) merupakan tanaman obat

yang paling populer digunakan di berbagai negara secara turun temurun karena memiliki banyak efek farmakologis. Komponen utamanya, eugenol, memiliki sifat sebagai immunomodulator yang dapat meningkatkan proliferasi sel imun. Cengkeh memiliki struktur kimia fenolik yang meliputi saponin, flavonoid, fenol, polifenol, dan fenolik kuinon yang memiliki efek antiinflamasi, antioksidan, dan antibakteri. Kandungan flavonoid, tanin, dan terpenoid saponin di dalamnya berperan dalam penyembuhan luka dengan mencegah penggumpalan pembuluh darah, merangsang pembentukan kolagen, serta sebagai astringen (Santoso dkk. 2022).

Tanaman cengkeh merupakan salah satu hasil terbesar dari perkebunan di Indonesia. Bagian utama yang paling sering digunakan ialah bunga cengkeh, tetapi bunga cengkeh agak sulit didapatkan karena tumbuhnya musiman. Hasil panen bagian tanaman ini per tahunnya tidak menentu dan dinilai merugikan petani.

Daun cengkeh sangat mudah ditemukan kapan saja tanpa menunggu musim. Daun cengkeh memiliki nilai jual yang ekonomis, dibandingkan dengan bunga cengkeh yang relatif lebih tinggi. Dengan memaksimalkan pemanfaatan daun cengkeh sebagai obat, masyarakat mendapat peluang ekonomi yang lebih besar dan praktis. Provinsi Bali berpusat pada tiga kabupaten penghasil cengkeh yakni Kabupaten Buleleng, Kabupaten Jembrana, dan Kabupaten Tabanan dengan total 87,9% dari total luas perkebunan cengkeh Provinsi Bali. Kecamatan Mendoyo diketahui memiliki jumlah penghasilan cengkeh terbesar di Jembrana selama 5 tahun terakhir yaitu pada 2018 sekitar 396,16 ton (Dewi dkk. 2021).

Sodium Sakarin adalah garam natrium yang berasal dari asam sakarin, yang memiliki rasa manis sekitar 300 kali lebih kuat dibandingkan gula biasa (sukrosa) dan sakarin mengandung nol kalori dan karbohidrat (Harningsih dkk. 2020). Penggunaan sodium sakarin pada sediaan topikal dengan ekstrak daun cengkeh bertujuan untuk meningkatkan kenyamanan pasien dalam pengaplikasiannya di dalam rongga mulut. Rasa manis dari sakarin diharapkan dapat menggantikan rasa pedas dari kandungan eugenol pada salep ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*).

Penelitian yang dilakukan (Haryani dkk. 2017) menyatakan bahwa ekstrak daun cengkeh 4% memiliki rerata daya hambat 6 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Mekanisme ini terjadi oleh karena terdapat ikatan fenol yang akan beradhesi pada sel bakteri akan menyebabkan lisis sel. Menurut penelitian (Rahmi dkk. 2021), minyak daun cengkeh dengan konsentrasi 10% dapat menyebabkan iritasi pada kulit. Penelitian (Ilma dkk. 2024) menyatakan bahwa penggunaan ekstrak daun cengkeh dengan konsentrasi 6% pada sediaan serbuk effervescent paling efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Penelitian yang dilakukan (Hiro 2024) menyatakan bahwa pemberian salep ekstrak daun cengkeh dengan konsentrasi 3% dengan penambahan sodium saccharin dapat meningkatkan jumlah fibroblas dalam penyembuhan luka insisi dibandingkan kelompok kontrol.

Pada penelitian ini, ekstrak daun cengkeh dan sodium sakarin akan diaplikasikan dalam sediaan salep. Salep adalah bentuk sediaan setengah padat yang mudah diaplikasikan pada permukaan jaringan. Salep bersifat tidak

mengiritasi dan memiliki daya lekat yang baik pada permukaan sehingga efektivitasnya lebih lama.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka peneliti melakukan penelitian efektivitas salep ekstrak daun cengkeh dengan konsentrasi 3%, 5%, dan 7% dengan penambahan sodium saccharin sebagai pemanis terhadap fase inflamasi penyembuhan luka insisi mencit dengan meneliti kadar TNF- α pada sampel plasma mencit.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, peneliti merumuskan suatu permasalahan apakah konsentrasi salep ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dengan tambahan *sodium saccharin* efektif terhadap ekspresi dari TNF- α dalam fase inflamasi penyembuhan luka insisi mencit (*Mus Musculus*).

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui efektivitas pemberian salep ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dengan tambahan *sodium saccharin* terhadap ekspresi dari TNF- α dalam fase inflamasi penyembuhan luka insisi mencit (*Mus musculus*).

1.3.2. Tujuan Khusus

Mengetahui efektivitas pemberian salep ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) konsentrasi 3%, 5%, dan 7% dengan tambahan *sodium saccharin* terhadap ekspresi dari TNF- α dalam fase inflamasi penyembuhan luka insisi mencit (*Mus musculus*).

1.4. Manfaat penulisan

1.4.1. Manfaat akademik

Dapat dimanfaatkan sebagai referensi untuk penelitian sejenis yang memanfaatkan salep ekstrak daun cengkeh dalam ekspresi TNF- α dalam fase inflamasi penyembuhan luka insisi mencit (*Mus musculus*).

1.4.2. Manfaat Praktis

Hasil penelitian dapat menghasilkan inovasi kepada masyarakat dalam pemanfaatan tanaman obat berupa daun cengkeh dalam membantu penyembuhan luka.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Cengkeh

2.1.1. Morfologi Cengkeh

Tanaman cengkeh merupakan tanaman rempah asli Indonesia, yaitu Maluku Utara, yang sudah dimanfaatkan sejak lama. Cengkeh memiliki sebutan yang bervariasi di setiap daerah, yaitu Cengkih di Jawa dan Sunda, Wunga Lawang di Bali, Sake di Nias, dan lainnya (Kappelle dkk. 2023).

Cengkeh merupakan tumbuhan perdu dengan batang pohon yang besar dan berkayu keras. Cengkeh memiliki umur yang panjang, tingginya sekitar 20-30 meter dan merupakan tumbuhan bercabang. Cengkeh memiliki morfologi daun tunggal, bulat, dan meruncing di ujungnya. Batang cengkeh berbentuk bulat dengan permukaan yang kasar dan memiliki banyak ranting. Arah tumbuh batangnya cenderung ke atas dan pohon cengkeh dapat bertahan hidup hingga puluhan tahun. Akar tanaman cengkeh merupakan akar tunggang. Akarnya berbentuk seperti tombak (*fusiformis*) yang sangat kuat yang dapat menahan pohon agar tetap tegak. Bagian akar pohon cengkeh dipenuhi bulu yang berfungsi sebagai penyerap nutrisi dari tanah untuk tanaman (Muhdhar dkk. 2018)

2.1.2. Daun Cengkeh

Daun cengkeh bertangkai tebal, bentuk bulat telur hingga lanset memanjang, meruncing di ujungnya, permukaan atas mengkilap, dan memiliki panjang 6-13,5cm, lebar 2,5-5cm dengan warna hijau kecoklatan saat muda dan hijau tua ketika daun sudah berumur (Mustapa & Si 2020). Daun cengkeh tidak termasuk daun lengkap karena tidak memiliki pelepah daun dan hanya memiliki tangkai daun (*petioles*) dan helaian daun (*lamina*). Daun cengkeh digolongkan sebagai daun majemuk karena terdapat lebih dari satu daun per tangkainya. Daun cengkeh berbentuk lonjong dan memiliki bunga di bagian ujungnya. Tanaman cengkeh berdaun tunggal, bertangkai, tebal, kaku, memanjang dan berbentuk lanset memanjang, ujung dan pangkal meruncing, tepi rata, tulang daun menyirip (Sapulette dkk. 2019) (Gambar 2.1).



Gambar 2.1 Daun Tanaman Cengkeh
(Sumber: Kamsurya dkk. 2023)

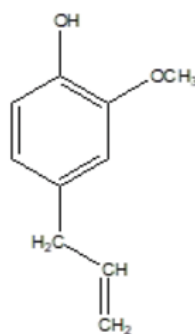
2.1.3. Klasifikasi Cengkeh

Klasifikasi cengkeh menurut (Simon dkk. 2022):

Divisio	: Spermatophyta
Sub- Divisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Myrtales
Famili	: Myrtaceae
Genus	: Syzygium
Spesies	: Syzygium aromaticum L Merr & Perry

2.1.4. Kandungan Senyawa Kimia

Eugenol merupakan suatu senyawa aktif yang terkandung pada minyak cengkeh. Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) mengandung komponen fenol meliputi eugenol ($C_{18}H_{12}O_3$), asetil eugenol, α dan β kariofelin, γ -eugenol (isomer eugenol), vanillin, dan asam galotanin. Eugenol merupakan senyawa terbanyak yang terkandung dalam minyak cengkeh. Eugenol adalah senyawa berwarna yang terdiri atas gugus hidroksil berikatan rangkap dan terkonjugasi dari cincin aromatik. Senyawa eugenol memiliki efek farmakologis sebagai analgesik, antimikroba, antiinflamasi, *stimulant*, serta anastesi lokal (Gojani dkk. 2023) (Gambar 2.2). Daun cengkeh juga mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin.



Gambar 2.2 Struktur Kimia Eugenol
(Sumber: Rahmi dkk., 2021)

Saponin termasuk dalam senyawa glikosida kompleks yang memiliki berat molekul tinggi. Pada tumbuhan, saponin banyak tersebar pada akar, batang, umbi, daun, biji, dan buah. Saponin memiliki aktivitas antibakteri dengan merusak protein dan enzim sel dan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan mempengaruhi permeabilitas membran bakteri dan menyebabkan gangguan transpor sitoplasma sehingga dapat menyebabkan kematian sel bakteri (Suhendar & Sogandi 2019).

Alkaloid merupakan metabolit sekunder yang bersifat basa dengan satu atau lebih atom nitrogen yang berada pada sistem siklik. Alkaloid memiliki aktivitas antimikroba dengan menghambat esterase, DNA, RNA, polymerase, dan berperan dalam respirasi dan transportasi sel. Alkaloid memiliki sifat antifungi dengan merusak membran sel dengan berikatan dengan ergosterol dan membentuk lubang sehingga menyebabkan kebocoran dinding sel (Maisarah dkk. 2023).

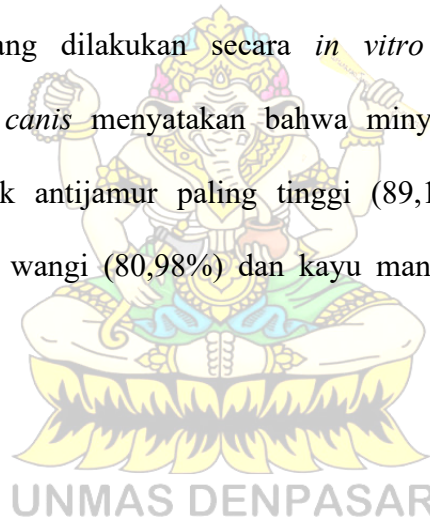
Tanin memiliki sifat astringen yang dapat bermanfaat sebagai antidiare, mengurangi pendarahan, dan dapat meredakan peradangan pada mukosa mulut serta pada kasus keracunan logam berat dapat digunakan sebagai antidotum (Pratama dkk. 2019).

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak terdapat pada tanaman. Flavonoid merupakan senyawa polifenol dengan lima belas atom karbon yang terdiri atas konfigurasi C6-C3-C6 yang berarti terdapat kerangka karbonnya memiliki dua gugus C6 (cincin benzena tersubsidi). Flavonoid memiliki sifat antibakteri oleh karena memiliki struktur kimia berupa cincin beta dan gugus -OH yang dapat menghambat sintesis prostaglandin dan *neutrophil chemotaxi* sehingga dapat menimbulkan efek antiinflamasi dalam penyembuhan luka (Anggitasari dkk. 2023).

2.1.5. Manfaat Daun Cengkeh

Eugenol merupakan senyawa yang terkandung pada minyak cengkeh yang sangat bermanfaat di sektor makanan maupun obat-obatan. Manfaat utamanya adalah sebagai penghambat perkembangan mikroorganisme terutama bakteri dan jamur. Kandungan eugenol pada daun cengkeh dapat memberi efek analgesik dengan menghambat kanal kalsium (Ca^{2+}) dan natrium (Na^{2+}) kedua kanal tersebut berperan dalam membentuk aksi potensial dan menghambat propagasi dari impuls nyeri. Eugenol memiliki efek antiinflamasi yang dapat menurunkan migrasi leukosit dan menghambat enzim COX-2 tanpa mempengaruhi COX-1 sehingga sinyal nyeri dapat terhambat (Salsabila dkk. 2023).

Dalam bidang kedokteran gigi, eugenol dimanfaatkan sebagai bahan utama perawatan gigi dengan dicampurkan pada semen gigi, bahan pengisi, bahan *restorative*, dan tablet *mucoadhesive* pada aplikasi gingiva (Tulungen 2019). Sifat antibakteri juga didapat dari komponen flavonoid pada daun cengkeh yang digunakan sebagai campuran pasta gigi karena dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstrasel yang mengganggu aktivitas sel bakteri *Streptococcus mutans* yang berhubungan dengan penyebab terjadinya karies secara *irreversible* (Dewi dan Astuti 2023). Sifat antijamur pada eugenol dibuktikan melalui penelitian yang dilakukan secara *in vitro* terhadap pertumbuhan *Microposum canis* menyatakan bahwa minyak atsiri daun cengkeh memiliki efek antijamur paling tinggi (89,17%) dibanding dengan minyak serai wangi (80,98%) dan kayu manis (77,07%) (Zarei dkk. 2018).



2.2. Luka

2.2.1. Definisi Luka

Luka merupakan suatu kondisi diskontinuitas jaringan berupa destruksi substansi jaringan yang disebabkan karena trauma atau tindakan pembedahan. Luka dapat terjadi akibat cedera, faktor eksternal seperti gesekan atau tekanan, atau penyakit yang mendasari seperti diabetes atau penyakit pembuluh darah (Wintoko & Yandika 2020). Luka dapat dikelompokkan berdasarkan struktur anatomisnya, sifat, proses penyembuhan, serta lama penyembuhan.

Berdasarkan sifatnya, luka dapat dibagi menjadi luka abrasi, *contusio*, laserasi, terbuka, insisi, penetrasi, *puncture*, sepsis, dan sebagainya. Pengelompokan luka berdasarkan struktur kulit dapat meliputi luka permukaan (superfisial) yang melibatkan jaringan epidermis kulit, *partial thickness* (epidermis-dermis), dan *full thickness* (epidermis, dermis, lemak, fasia, dan tulang). Berdasarkan proses penyembuhannya, luka dapat dibagi menjadi tiga, yaitu: (1) penyembuhan primer (*healing by primary intention*) yaitu penyatuan kembali tepi luka, permukaan bersih, jaringan utuh, umumnya terjadi pada luka insisi. (2) Penyembuhan sekunder (*healing by secondary intention*) yaitu hilangnya sebagian jaringan, proses penyembuhan dimulai dari granulasi jaringan di bawah dan sekitar luka. (3) penyembuhan tersier (*delayed primary healing*) yaitu penyembuhan luka yang cenderung lambat dan dapat disertai infeksi, perlu penutupan luka secara manual. Berdasarkan lama penyembuhan luka dibagi menjadi luka akut dan kronis (Han & Ceilley 2017).

2.2.2. Proses Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka adalah proses yang dinamis karena melibatkan proses bioseluler dan biokimia yang saling berhubungan. Kombinasi respon vaskuler, proses seluler, dan terbentuknya ikatan senyawa kimia sebagai substansi mediator di daerah luka adalah komponen yang saling bekerja sama dalam membentuk kembali komponen baru dan fungsional dari jaringan yang rusak (Labib dan Winters 2025). Tahap penyembuhan luka dibagi menjadi empat, yaitu:

a. Fase Hemostatis

Hemostasis merupakan proses fisiologis yang kompleks yang melibatkan dengan regulasi platelet, sel, faktor pembekuan pada darah, dan plasma protein. Setelah terjadi injuri, tubuh manusia secara otomatis melakukan proses fisiologis untuk mencapai hemostasis dengan menghentikan pendarahan secara cepat. Pembuluh darah yang mengalami kerusakan akan membentuk formasi gumpalan darah dengan cepat untuk mencegah kehilangan darah sekaloigus membatasi respon hemostatik pada lokasi cedera untuk mempertahankan keadaan cairan darah di dalam pembuluh darah tubuh (Malik dkk. 2021).

Fase hemostasis dimulai dari vasokonstriksi dan pembentukan formasi thrombus platelet. Saat terjadi pendarahan, pembuluh darah lokal akan berkontraksi mengurangi aliran darah lokal sehingga pendarahan berkurang. Trombosit yang semula tidak aktif akan aktif pada kulit yang terbuka dan menempel pada kolagen di endotel. Melalui adhesi trombosit, area jejas dapat diidentifikasi dan pembentukan thrombus dapat terjadi. Sistem koagulasi diaktivasi dan merangsang koagulasi lokal darah, mengubah fibrinogen yang dapat larut menjadi fibrin tak larut sehingga mengaktifkan jalur intrinsik, ekstrinsik, dan jalur umum pembekuan (Terent'eva dkk. 2017).

b. Fase Inflamasi

Inflamasi merupakan interaksi yang dinamis dan beragam antara bermacam-macam sel, *growth factor*, sitokin, kemokin, dan senyawa

kimia lain yang penting dalam penyembuhan luka. Setelah terjadi pembentukan gumpalan platelet dan fibrin pada daerah luka, histamin, bradikinin, dan leukotrin diproduksi oleh sel mast di sekitar jejas mengaktifkan komponen imun dan memperlebar pembuluh darah. Vasodilatasi menyebabkan migrasi sel leukosit dan trombosit ke jaringan dan membentuk *scaffold*. Migrasi sel leukosit dan trombosit akan meningkatkan permeabilitas membran sel dan mengaktifasi kolagenase dan elastase yang merangsang pergerakan sel ke matriks provisional yang telah terbentuk. Trombosit terdegranulasi dan mensekresi sitokin yang merangsang fase inflamasi.

Neutrofil dan makrofag adalah sel yang pertama kali berada pada daerah jejas, fungsi utamanya ialah membersihkan debris pada matriks ekstrasel dan memerangi infeksi. Neutrofil teraktivasi pada cedera sekitar 24 jam hingga 36 jam setelah terjadi luka dan berperan sebagai ‘perespon pertama’ dengan merekrut sinyal pemanggil dari darah.

Neutrofil mensekresi sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 β , IL-6, TNF- α , dan protease untuk menghancurkan matriks ekstraseluler yang masih tersisa. Setelah melaksanakan fungsi fagositosisnya, neutrofil akan singkirkan oleh makrofag ataupun mengalami apoptosis. Monosit merupakan sel yang akan berdiferensiasi menjadi makrofag yang akan memproduksi proteinase untuk menghancurkan matriks ekstraseluler (ECM) dan menyingkirkan benda asing, merangsang migrasi sel, dan mengatur pergantian ECM (Landén dkk. 2016).

c. Fase Proliferasi

Fase ini ditandai dengan matriks provisional yang terbentuk pada fase sebelumnya yang terdiri dari platelet dan makrofag digantikan dengan migrasi sel fibroblas dan deposisi matriks ekstrasel. Secara mikroskopis, fase ini ditandai dengan terbentuknya jaringan granulasi yang terdiri dari fibroblas, pembuluh darah baru, granulosit, sel endotel, dan kolagen. Tujuan dari fase ini adalah untuk membangun kembali keseimbangan antara pembentukan jaringan paruh dan regenerasi jaringan (Landén dkk. 2016).

Fase ini dimulai dengan terjadinya proses pembentukan pembuluh darah baru (neoangiogenesis). Fase ini berfungsi untuk mempertahankan kelangsungan fungsi jaringan yang cedera. Pembentukan pembuluh darah baru berasal dari kapiler yang muncul dari daerah sekitar cedera yang menggantikan pembuluh darah yang rusak, sehingga terlihat berwarna merah. Sel endotel memproduksi sitokin dan beberapa faktor pertumbuhan *angiopoetin*, *Fibroblast Growth Factor* (FGF), *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), dan TGF- β . Migrasi dan proliferasi sel akan menurun setelah terjadi pembentukan jaringan yang cukup kuat dan sel-sel yang berlebihan akan mengalami apoptosis (Primadina dkk. 2019).

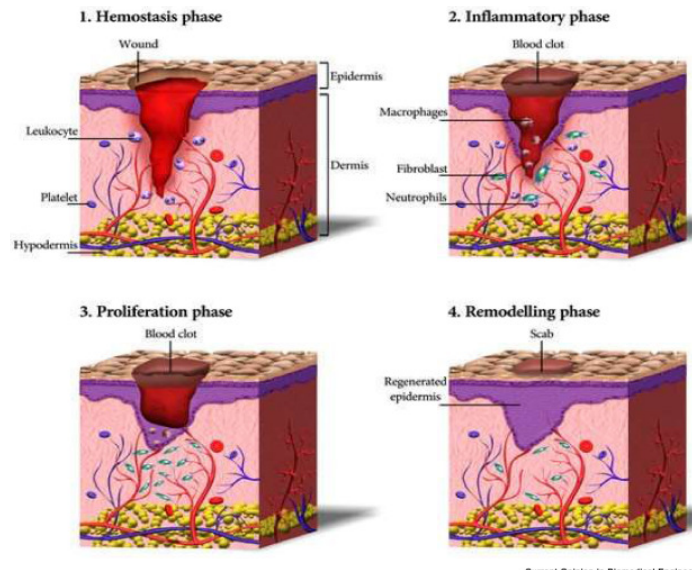
Pembentukan fibroblas menghasilkan matriks ekstraseluler yang mengisi rongga luka dan menyediakan dasar untuk migrasi keratinosit. Keratinosit akan mensekresi kolagenase yang membantu pembentukan matriks awal. Keratinosit kemudian akan bermigrasi

dan berdiferensiasi menjadi sel epitel. Tahapan selanjutnya berupa re-epitelisasi dengan sel epitelium yang bermigrasi dari tepi luka menuju tengah luka. Migrasi sel akan terhenti dan dilanjutkan dengan pembentukan membran basal (Velnar T dkk. 2009).

d. Fase *Remodeling*

Fase ini dimulai beberapa minggu setelah luka, dan berlangsung sekitar satu tahun, fase remodeling merupakan transisi dari jaringan granulasi ke jaringan parut dan terjadi penurunan proses angiogenesis dan transisi dari kolagen tipe III pada jaringan granulasi menjadi kolagen tipe I. Fase ini didominasi oleh miofibroblas yang merupakan diferensiasi dari fibroblas sebagai respon kekakuan mekanis dan sinyal TGF- β dan memonitor kontraksi luka.

Miofibroblas mensekresi aktin otot polos yang menghasilkan gaya tarikan pada dasar luka. Miofibroblas juga melepaskan *Matrix Metalloproteinase* (MMP) yang menyebabkan degradasi kolagen yang terbentuk pada pembentukan jaringan granulasi. Miofibroblas pada dasar luka juga dapat berdiferensiasi menjadi jaringan adiposa yang menggantikan hilangnya jaringan sebelumnya oleh karena luka. Proses ini terjadi berdasarkan folikel rambut neogenik yang mensinyalu protein morfogenik tulang dan aktivasi faktor transkripsi adiposit (Ellis dkk. 2018) (Gambar 2.3).



Gambar 2.3 Fase Penyembuhan Luka

(Sumber: Dhand dkk., 2017)

2.2.3. Faktor Lokal dan Sistemik dalam Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka dipengaruhi oleh banyak faktor. Secara umum, proses tersebut dimediasi oleh dua faktor, meliputi faktor lokal dan faktor sistemik. Faktor lokal adalah faktor yang mencakup karakteristik dari luka tersebut, sementara faktor sistemik menyangkut penyakit atau kondisi kesehatan tubuh secara keseluruhan. Beberapa faktor ini saling berkaitan dan faktor sistemik bekerja melalui efeknya secara lokal.

Faktor lokal yang mempengaruhi penyembuhan luka meliputi pasokan oksigen di daerah jejas dan infeksi. Oksigen adalah komponen yang sangat penting dalam proses metabolisme sel karena bertugas dalam memproduksi energi dengan menghasilkan ATP. Oksigen penting untuk mencegah terjadinya infeksi selama proses penyembuhan luka, menginduksi angiogenesis pada proses proliferasi, meningkatkan diferensiasi, migrasi, dan re-epitelisasi keratinosit, merangsang

proliferasi fibroblas dan sintesis kolagen, serta menyebabkan kontraksi luka. Oksigen juga berperan dalam produksi superoksida yang sangat membutuhkan oksigen yang berfungsi untuk membunuh patogen secara oksidatif.

Penyembuhan luka dapat mengganggu pembuluh darah karena tingginya kebutuhan oksigen akibat peningkatan metabolisme dan dapat menyebabkan hipoksia. Hipoksia sementara sebagai hasil dari terjadinya cedera dapat merangsang penyembuhan luka, namun hipoksia kronis dan berkepanjangan dapat memperlambat proses penyembuhan luka (Rosyid 2022).

Infeksi bakteri secara lokal dapat terjadi dan dapat menghambat penyembuhan luka. Bakteri yang paling sering menyebabkan infeksi adalah *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan spesies *Streptococcus* lainnya. Infeksi menyebabkan tubuh manusia mengaktifasi proses inflamasi dengan migrasi leukosit dan pelepasan sitokin. Pelepasan endotoksin terjadi sebagai efek dari proses fagositosis dari leukosit yang mengakibatkan nekrosis dan inflamasi lokal akibat peningkatan sitokin pro-inflamasi, peningkatan aktivitas *metalloproteinase*, dan penurunan pelepasan *growth factor*. Inflamasi kronis dapat menghambat proses penyembuhan, mempengaruhi reepitelisasi, dan tertundanya retraksi luka dan remodeling jaringan (Tottoli dkk. 2020).

Faktor sistemik yang mempengaruhi proses penyembuhan luka adalah umur, hormon seks, stress, diabetes, obesitas, obat-obatan,

konsumsi alkohol, dan merokok. Peningkatan umur dapat menyebabkan perubahan metabolisme, sistemik, dan penipisan lapisan epidermis. Respon inflamasi pada usia tua menyebabkan terlambatnya migrasi leukosit ke area jejas, penurunan aktivitas fagositosis makrofag, dan penurunan pelepasan *growth factor* dan sitokin. Peningkatan umur juga dapat menyebabkan lambatnya reepitelisasi dan angiogenesis, serta penurunan aktivitas fibroblas dan remodeling kolagen (Beyene dkk. 2020).

Hormon seks seperti estrogen berperan sebagai anti inflamasi dengan menurunkan infiltrasi leukosit dan melepaskan sitokin pro-inflamasi. Hormon androgen (testosteron dan *5 α -dihydrotestosterone*) memiliki efek inflamasi kronis sehingga dapat menghambat penyembuhan luka (Hornig dkk. 2017). Kondisi stress juga dapat menghambat penyembuhan luka dan menyebabkan berbagai penyakit sistemik dengan deregulasi hormon endokrin. Stress bekerja di sistem saraf dan hipotalamus dengan meningkatkan pelepasan epinephrin, norepinephrin, kortisol, dan glukokortikoid. Molekul ini dapat menurunkan pelepasan sitokin dan respon imun dari leukosit yang dapat mengganggu proses inflamasi dan menghambat penyembuhan (Takahashi dkk. 2018).

Penyakit sistemik seperti diabetes dapat menyebabkan gangguan penyembuhan luka dengan mempengaruhi migrasi dan aktivasi leukosit dan menyebabkan peningkatan pelepasan sitokin pro-inflamasi yang dapat menyebabkan peradangan kronis. Diabetes juga menyebabkan

perubahan mikrovaskular kulit sehingga dapat menyebabkan lingkungan yang hipoksia dan menurunkan angiogenesis. Obesitas juga dapat menyebabkan berbagai komplikasi pada penyembuhan luka. Tekanan dan ulser pada vena berhubungan dengan terjadinya hematoma, edema, formasi seroma, dan infeksi lokal yang dikenal sebagai *obese wound* (Beyene dkk. 2020).

Penggunaan obat-obatan seperti kortikosteroid yang digunakan rutin sebagai agen antiinflamasi dapat menyebabkan efek penurunan sitokin dan *growth factor* yang dapat memodulasi mekanisme penyembuhan dan menurunkan proliferasi fibroblas. Penggunaan *Non-steroidal anti-inflammatory drugs* (NSAID) juga dapat memberikan efek negatif pada penyembuhan luka dengan menurunkan proliferasi fibroblas., retraksi luka, dan memperlambat angiogenesis (Wang dkk. 2018).

Kebiasaan mengkonsumsi alkohol dan merokok dapat memperlambat atau memperburuk penyembuhan luka. Konsumsi alkohol secara berkepanjangan dapat memperlambat penyembuhan luka dengan menekan sistem imun host dan meningkatkan risiko infeksi melalui penurunan aktivitas neutrofil dan sitokin pro-inflamasi dan meningkatkan sitokin dan leukosit pada fase terakhir penyembuhan sehingga penyembuhan terhambat. Merokok dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka dengan menyebabkan hipoksia oleh senyawa yang terdapat pada rokok seperti nikotin, karbon monoksida, dan hidrogen sianida. Merokok juga dapat meningkatkan agregasi dan adhesi

trombosit, meningkatkan kekentalan darah, dan meningkatkan risiko terjadinya emboli dan trombus. Senyawa pada rokok juga dapat menyebabkan penurunan migrasi fibroblas, proliferasi, dan remodeling kolagen (Beahrs dkk. 2019).

2.3. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*

2.3.1. Definisi

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) merupakan suatu alat analisis biomedis yang digunakan untuk mendeteksi dan mengukur antigen atau antibodi pada sampel tertentu. Keberhasilan uji ELISA dinilai sangat baik karena dipengaruhi oleh kesensitifan, masa simpan reagen yang cenderung lebih panjang, tidak ada bahaya radiasi, penyimpanan reagen yang mudah, kecepatan, serta reproduktivitas reagen yang baik.

Prinsip kerja dari metode ELISA menggunakan konsep imunologis dasar dari antigen yang berikatan secara spesifik dengan antibodi, yang menyebabkan terdeteksinya sebagian kecil dari antigen seperti protein, peptida, hormon, atau antibodi pada cairan sampel. Antigen yang digunakan adalah *alkaline phosphatase* dan *glucose oxide* yang terimobilisasi pada sumuran (*well*). Antigen diberikan pada antibodi dari sampel dan dideteksi oleh antibodi sekunder yang kombinasi enzim. Substrat kromogenik akan menghasilkan perubahan warna yang akan terlihat pada pengecatan tertentu yang menunjukkan terdapatnya antigen atau antibodi (Dita 2021).

2.3.2. Teknik Pemeriksaan ELISA

Teknik ELISA dibagi menjadi 6 jenis (Santosa 2022), yaitu:

a. ELISA *Direct*

Teknik direk merupakan teknik yang paling sederhana. Teknik ini digunakan untuk mengukur antigen pada sampel dengan menggunakan antibodi yang spesifik. Antigen target pada sampel dimasukkan pada microtiter sehingga antigen dapat menempel pada dinding microtiter. Microtiter dibilas untuk menyingkirkan antigen yang tidak menempel pada dinding dan ditambahkan antibodi berlabel enzim sehingga terbentuk kompleks ikatan antigen-antibodi. Tahapan terakhir berupa pemberian stop solution dengan menambahkan substrat tertentu yang akan bereaksi dengan enzim pada antibodi yang akan menghasilkan persipitat berwarna yang dapat diukur konsentrasi atau keberadaannya. Kelebihan teknik ini adalah lebih spesifik karena hanya terdapat satu jenis antigen atau antibodi sehingga pengerjaan lebih cepat dan resiko terjadi reaksi silang lebih rendah. Kekurangan dari teknik ini adalah harganya yang cukup mahal, kurang sensitif, dan enzim tidak fleksibel.

b. ELISA *Indirect*

Teknik tidak langsung ini lebih spesifik untuk mendeteksi antibodi sehingga memerlukan antigen yang spesifik. Bahan yang diperlukan dalam Teknik ini adalah antigen monoclonal, antibodi pada sampel, antibodi sekunder dengan label enzim, substrat, dan *stop solution*. Kelebihan teknik ini adalah terdapat variasi antibodi sekunder dan

lebih sensitif. Kelemahan teknik ini adalah memiliki metode imobilisasi yang non spesifik dan waktu pengujian yang lebih lama.

c. ELISA *Sandwich*

Teknik ini mirip dengan teknik *direct* yaitu mencari antigen, pembedanya adalah di teknik ini tidak terdapat tahapan purifikasi antigen target. Pada teknik ini, antigen yang digunakan bersifat multivalen seperti polisakarida atau protein yang memiliki dua sisi antigen yang dapat bereaksi dengan antibodi spesifik primer dan antibodi sekunder yang berlabel enzim. Teknik *sandwich* memiliki sensitivitas yang tinggi sehingga banyak digunakan untuk mendeteksi antigen yang kadarnya rendah dengan tingkat kontaminasi sampel yang tinggi. Sensitivitas teknik ini dipengaruhi oleh molekul antibodi primer yang menempel pada dinding *microtiter* dan derajat avinitas antibodi primer dan sekunder dengan antigen target.

Kelebihan teknik ini adalah dapat mendeteksi antigen pada *microtiter* yang sangat rendah, mampu mengukur antigen multivalent tanpa purifikasi, dan dapat secara selektif mengikat antigen target. Kelemahan teknik ini adalah susah mencari kedua sisi antibodi yang berikatan dengan antigen sejenis pada sisi antigen yang berbeda dan hanya dapat digunakan untuk mendeteksi antigen yang bersifat *multivalent*.

d. ELISA Biotin Streptavidin (*Modern ELISA*)

Teknik ini merupakan perkembangan dari *sandwich* ELISA karena dapat mencari antigen serta antibodi. Teknik ini memiliki

tingka kesensitifan yang tinggi. Prinsip kerja teknik ini sama dengan *sandwich* ELISA, namun menggunakan antigen primer (penangkap) dan antigen sekunder (detektor) bersifat opsional apabila antibodi target tidak bereaksi dengan enzim label. Teknik ini banyak digunakan untuk mendeteksi vitamin B7 (biotin).

e. *Multiplex Immunoassay*

Multiplex immunoassay merupakan prinsip ELISA yang dikembangkan untuk menguji analit dalam waktu yang sama dengan pengujian sampel. Keunggulan teknik ini adalah dapat menguji marker dalam waktu yang bersamaan dan lebih hemat waktu karena menggabungkan deteksi beberapa jenis analit ke dalam satu reaksi. Prinsip kerja *Multiplex immunoassay* adalah dengan menggunakan manik-manik yang dilapisi antibodi sehingga memungkinkan untuk mendeteksi hingga 500 analit berbeda.

f. *ELISA Competitive*

Teknik ini digunakan untuk mendeteksi antigen atau antibodi dengan menambahkan kompetitor untuk bereaksi dengan antigen atau antibodi pada mikrotiter. Tanda positif terdeteksinya antigen adalah apabila kompetisi antigen target menang dengan antigen spesifik yang berikatan dengan antigen berlabel enzim dan berinteraksi dengan antibodi spesifik sehingga tidak ada sinyal yang dihasilkan.

2.4. *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α)

2.4.1. Definisi TNF- α

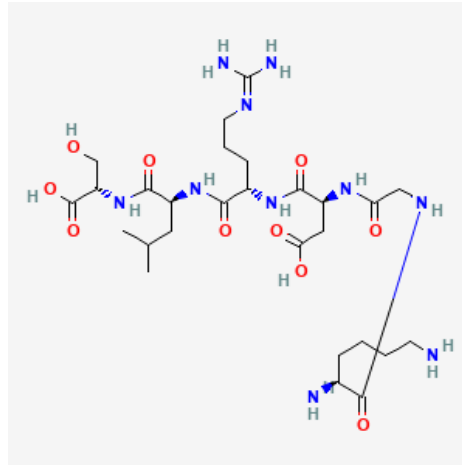
Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) merupakan sitokin yang memiliki efek pleiotrifik pada berbagai tipe sel. TNF- α diidentifikasi sebagai regulator mayor pada respon inflamasi dan terlibat dalam proses patogenesis dari beberapa reaksi inflamasi berat seperti autoimun. Aktivitas TNF- α diperantarai oleh reseptor TNF- α I dan II yang terdapat pada semua jenis sel tubuh, kecuali sel darah merah (eritrosit). TNF- α yang berikatan dengan reseptor akan mengaktifasi beberapa jalur transduksi sinyal seluler, salah satunya *transcription factor activation* (*nuclear factor- κ B*), jalur protease (kaspase), dan jalur protein kinase. TNF- α berperan dalam menjaga kestabilan sistem imun, misalnya aktivasi makrofag dan fagosom, diferensiasi monosit menjadi makrofag, pemanggilan neutrofil dan makrofag, pembentukan granuloma, dan mempertahankan integritas granuloma tersebut. TNF- α juga berperan dalam merangsang proses inflamasi dan pengaktifan sel-sel imun secara berlebihan yang dapat memicu destruksi jaringan. Jumlah TNF- α yang berlebihan dapat menyebabkan berbagai reaksi inflamasi yang tinggi, sehingga penghambatan TNF- α dapat menjadi salah satu opsi pengobatan (Suprpto dkk. 2022).

Proses penyembuhan luka yang normal akan menunjukkan kadar TNF- α tertinggi pada 48-72 jam setelah luka terjadi. TNF- α dilepaskan secara cepat pada sel endotel, keratinosit, dan fibroblas pada daerah jejas. Proses ini memicu respon imun dengan terjadinya inflamasi. Kadar TNF-

α meningkat secara signifikan pada inflamasi kronis yang dapat menimbulkan efek negatif seperti memicu inflamasi kronis tak terkontrol yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan organ. Kadar TNF- α yang tinggi juga dapat menyebabkan terhambatnya penyembuhan luka (Fitzgerald dkk. 2017).

2.4.2. Struktur

Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) dikodekan dengan gen a 3-kb yang dilokasikan pada kromosom 6p21.3 dan terdiri dari empat ekson. Setiap monomer TNF- α membentuk β -*sandwich* yang memanjang dan antiparalel, sesuai dengan struktur yang terdiri dari sepasang β antiparalel. Lembar β berlipit yang terdapat gugus amino (NH) akan memanjang sepenuhnya dan berinteraksi dengan membentuk ikatan hidrogen dengan gugus karbonil dari untai sekitarnya. Lembar bagian dalam terdiri atas pita-pita yang terlibat dalam kontak internal dan membentuk trimer. Lembar dalam memiliki dasar yang datar dan lembar luar sangat melengkung. Prekursor TNF- α (pro- TNF- α) adalah protein transmembran tipe II yang terdiri dari TNF- α matang dan *leader sequence* yang mengandung domain sitoplasma, domain transmembran, dan domain ekstraseluler. Pro-TNF- α yang telah disintesis ditranspor ke dalam membran sel dan secara langsung membentuk homotrimer yang dipecah secara proteolitik oleh enzim metaloproteinase multidomain yang mengubah pro- TNF- α menjadi TNF- α yang matang (Bastos dkk. 2024) (Gambar 2.4).



Gambar 2.4 Struktur 2D TNF- α

(Sumber: Dominguez 2025)

2.4.3. Peran TNF- α dalam Penyembuhan Luka

Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) dilepaskan oleh sel endotel vaskuler, keratinosit, dan fibroblas segera setelah inflamasi pada jaringan luka dan ini menginisiasi fase inflamasi dengan merangsang migrasi sel leukosit pada fase inflamasi. TNF- α meregulasi aktivitas dari fibroblas, sel endotel vaskuler, dan keratinosit, dan *matrix metalloproteinase* yang terlibat pada penyembuhan jaringan yang rusak (Ritsu dkk. 2017). TNF- α juga berperan dalam mengaktivasi *mesenchymal stem cells* (MSC). MSC memegang peranan penting dalam penyembuhan luka terutama pada fase inflamasi karena memiliki karakteristik *immunoregulator* yang dapat mengontrol proses inflamasi. MSC yang teraktivasi melepaskan berbagai molekul seperti prostaglandin E2 yang berikatan dengan reseptor EP4 dan EP2 pada makrofag, sehingga berefek pada polaritas makrofag pada proses peradangan ke proses regenerasi. Produksi TNF- α meningkat ketika terdapat penyakit inflamasi kronis. TNF- α merangsang

proses inflamasi dan dapat menyebabkan peradangan tidak terkontrol di sekitar luka apabila jumlahnya terlalu banyak. Sekresi TNF- α yang tak terkontrol dapat memicu peradangan kronis yang berkaitan dengan penyakit autoimun (Nugraha dan Putra 2018).

2.5. Salep

2.5.1. Definisi Salep

Salep didefinisikan sebagai sediaan obat setengah padat yang digunakan secara topikal pada kulit atau mukosa. Dasar yang digunakan pada salep dibagi menjadi empat kelompok: dasar salep serap, dasar salep senyawa hidrokarbon, dasar salep yang dapat dicuci dengan air, dan dasar salep yang larut dalam air. Dasar salep umumnya memiliki sifat anhidrat dan mengandung satu atau lebih obat suspensi atau larutan yang terdispersi (Usha dan Ashish 2015). Salep adalah sediaan obat semipadat yang kental, homogen, dan penggunaan secara oleh (topikal) pada berbagai permukaan tubuh.

2.5.2. Klasifikasi Salep

- a. Klasifikasi salep berdasarkan konsistensinya sebagai berikut:
1. Unguenta adalah salep dengan konsistensi yang tidak meleleh pada temperature normal, mirip seperti mentega, tapi mudah menyebar tanpa mengeluarkan energi.
 2. Krim adalah salep yang memiliki kandungan air yang tinggi serta mudah meresap di kulit. Salep tipe ini mudah dicuci dengan air.

3. Pasta adalah salep yang terdiri dari >50% padatan (bubuk) dalam bentuk krim kental yang dapat melindungi permukaan yang dioleskan.
 4. Cerata adalah salep berlemak yang mengandung persentase lilin yang tinggi sehingga konsistensinya lebih padat,
 5. *Jelly* adalah salep dengan konsistensi yang lembut, cair, dan mengandung sedikit atau tanpa lilin yang banyak digunakan pada membran mukosa sebagai basis atau pelumas dan mengandung lemak atau minyak dengan titik didih yang rendah (Murtini 2016).
- b. Klasifikasi salep berdasarkan sifat farmakologi dan penyerapannya sebagai berikut:
1. Salep epidermik: salep ini ditujukan untuk bekerja di lapisan epidermis kulit (Usha & Ashish 2015). Fungsi salep ini adalah untuk menghasilkan efek secara lokal dan melindungi kulit karena tidak terdapat obat yang diserap. Penambahan antiseptik dan astringen pada salep ditujukan untuk meredakan iritasi dan dasar salep yang digunakan dalam tipe ini adalah hidrokarbon (Murtini 2016).
 2. Salep endodermik: salep ini bekerja di struktur kulit yang lebih dalam (Usha & Ashish 2015). Salep ini masuk ke dalam kulit dan terserap sebagian. Salep ini digunakan untuk meredakan iritasi kulit atau selaput lendir secara lokal. Dasar salep yang cocok adalah minyak lemak (Murtini 2016).

3. Salep diadermik: salep ini dapat menembus lapisan kulit dan melepaskan bahan aktif secara sistemik ke cairan tubuh (Usha & Ashish 2015). Bahan aktif pada salep ini diserap secara keseluruhan dan dasar salep yang digunakan pada tipe ini adalah *adepts lanae* dan *oleum cacao* (Murtini 2016).

2.5.3. Keuntungan dan Kerugian Sediaan Salep

Penggunaan salep sebagai agen topikal pengobatan memiliki keunggulan karena dapat melembabkan kulit sehingga cocok digunakan pada kulit yang kering dan memiliki risiko iritasi yang rendah karena mengandung sedikit minyak dan lemak, serta penyimpanannya yang mudah. Salep memiliki efek yang spesifik pada area yang terkena sehingga menyebabkan efek samping yang rendah karena tidak dimetabolisme pada lintas pertama, secara kimiawi lebih stabil, dan penanganannya lebih mudah dibandingkan dengan sediaan cair (Usha & Ashish 2015).

Kerugian dari penggunaan sediaan salep adalah dapat menimbulkan noda estetika karena mengandung minyak, ketepatan dosis tergantung oleh keseragaman jumlah yang diaplikasikan, dibutuhkan pengawet dalam formulasinya karena basis emulsi yang rawan terkontaminasi jamur, dan mudah berubah warna (Usha dan Ashish 2015).

2.6. Ekstrak

2.6.1. Definisi Ekstrak

Ekstraksi merupakan proses pemilahan senyawa aktif yang larut dari bahan simplisia menggunakan pelarut tertentu. Simplisia adalah bahan alami yang berasal dari alam yang dikeringkan tanpa melalui proses pengolahan lain. Bahan alam dikeringkan guna memperpanjang waktu simpan dan mempermudah pemanfaatannya. Ekstraksi merupakan proses penarikan atau pemisahan komponen aktif senyawa metabolit sekunder dari hewan maupun tumbuhan menggunakan pelarut yang telah ditentukan. Pelarut akan berdifusi hingga ke material padat bahan yang menyebabkan dinding sel membengkak dan kerangka selulosa mengalami pelonggaran sehingga pori-pori dinding sel melebar dan pelarut dapat dengan mudah masuk ke dalam sel. Komponen sel akan pecah dan komponen sel akan larut sesuai dengan tingkat kelarutannya lalu berdifusi ke luar akibat gaya yang ditimbulkan karena perbedaan konsentrasi bahan terlarut pada dalam dan luar sel (Wahyuningsih dkk. 2024).

2.6.2. Metode

Metode ekstraksi menurut (Wahyuningsih dkk. 2024) dibagi menjadi 5 macam, yaitu:

a. Maserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi yang paling umum dilakukan dengan memasukkan serbuk simplisia tanaman dan pelarut yang telah ditentukan ke dalam wadah inert lalu ditutup rapat dan didiamkan

pada suhu kamar. proses dihentikan apabila keseimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman telah tercapai. Kekurangan teknik ini adalah lama dan beberapa senyawa sulit diekstraksi pada suhu kamar yang memungkinkan beberapa senyawa hilang. Metode ini banyak digunakan karena kerusakan senyawa yang bersifat termolabil dapat dihindari.

b. *Ultrasound -Assited Solvent Extraction*

Metode ini merupakan metode maserasi yang dikombinasi dengan bantuan *ultrasound*. *Ultrasound* merupakan sinyal dengan frekuensi yang tinggi yaitu 20 kHz. Prinsip dari metode ini adalah memberikan tekanan mekanik pada sel sehingga menghasilkan rongga pada sampel yang menyebabkan kematian sel sehingga kelarutan senyawa dalam bahan pelarut dan hasil ekstraksi dapat meningkat.

c. Perkolasi

Perkolasi merupakan metode yang membasahi serbuk simplisia secara perlahan pada perlokator. Perlokator adalah tabung silindris dengan kran pada dasarnya. Pelarut akan dibiarkan menetes melewati serbuk dan menghasilkan ekstrak cair pada wadah di bawah perlokator. Kelebihan metode ini adalah pelarut lebih stabil karena selalu dilewati oleh pelarut yang baru. Kekurangan dari metode ini adalah pelarut sulit menjangkau seluruh area akibat ketidak homogenan sampel pada perlokator.

d. *Soxhlet*

Soxhlet merupakan metode dengan membungkus sampel dengan pembungkus dengan bahan selulosa atau kertas saring yang ditempatkan pada labu dan di bawah kondensor. Pelarut dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, membutuhkan sedikit pelarut, dan waktu yang relative sedikit. Kerugiannya adalah senyawa yang tidak stabil dengan suhu tinggi dapat rusak karena ekstrak diperoleh pada titik didih.

e. Refluks dan destilasi uap

Metode ini dilakukan dengan memasukkan sampel dan pelarutnya ke dalam labu dan dihubungkan dengan kondensor. Pelarut akan dipanaskan hingga mencapai titik didih dan menghasilkan uap yang terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Destilasi uap mempunyai metode yang serupa dengan refluks dan umumnya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial. Uap terkondensasi dan destilat yang terpisah akan ditampung pada wadah yang dihubungkan pada kondensor. Kekurangan dari metode ini adalah senyawa termolabil dapat mudah rusak.

2.7. Mencit

Mencit (*Mus musculus*) strain galur merupakan jenis tikus yang paling banyak digunakan sebagai hewan model pada penelitian laboratorium. Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan dengan famili Muridae yang merupakan hewan omnivora dengan rambut berwarna keabuan atau putih (albino) dan

warna perut sedikit lebih pucat, mata berwarna hitam atau merah, dan kulit berpigmen. Mencit memiliki ukuran yang kecil dengan panjang tubuh sekitar 7-10cm tidak termasuk panjang keseluruhan hingga ekornya. Mencit yang paling sering digunakan dalam penelitian adalah mencit berjenis kelamin jantan karena cenderung lebih aktif dan tidak memiliki hormon estrogen sehingga lebih stabil dibandingkan mencit betina karena tidak mengalami perubahan hormonal (Ariyanto dkk. 2024)..

Tikus yang biasanya digunakan sebagai hewan percobaan laboratorium harus memiliki kriteria meliputi keseragaman berat badan, jenis kelamin, rentang umur yang tidak jauh berbeda, mata berwarna cerah yang menandakan fisik yang sehat, pergerakan normal, bulu tidak tegak, dan kriteria lainnya yang disesuaikan dengan tujuan penelitian, misalnya penelitian dengan tujuan mengidentifikasi hormon jantan pada tikus sehingga digunakan kelompok tikus dengan jenis kelamin jantan. Penggunaan mencit sebagai hewan coba laboratorium karena memiliki banyak kelebihan yaitu siklus hidupnya yang lebih pendek, jumlah anakan per kelahiran banyak, pemeliharaan yang mudah, dan variasi sifat-sifatnya banyak. Mencit memiliki struktur anatomi dan fungsi organ yang mirip dengan material atau agen yang telah dites (Rejeki dkk. 2018) (Gambar 2.5).

Berikut merupakan klasifikasi mencit (Khairani dan Midoen 2024):

Kingdom : *Animalia*

Filum : *Chordata*

Kelas : *Mamalia*

Ordo : *Rodentia*

Famili : *Muridae*

Genus : *Mus*

Spesies : *Mus musculus*



Gambar 2.5 *Mus Musculus*

(Sumber: Ariyanto dkk. 2024)