

BAB I

PENDAHULUAN

1. 1 Latar Belakang

Diabetes melitus merupakan gangguan metabolik heterogen yang ditandai dengan hiperglikemia kronik yang disebabkan oleh gangguan sekresi insulin, resistensi insulin atau keduanya (Astrid Petersman *et al.*, 2019). International Diabetes Federation (IDF) tahun 2021 mencatat 537 juta orang dewasa (umur 20-79 tahun) atau 1 dari 10 orang hidup dengan diabetes di seluruh dunia. Diabetes juga menyebabkan 6,7 juta kematian atau 1 tiap 5 detik. IDF mencatat 4 dari 5 orang pengidap diabetes (81%) tinggal di negara berpendapatan rendah dan menengah.

Riskesmas 2018 mencatat prevalensi diabetes melitus meningkat 8,5% dari data Riskesmas tahun 2013. Hampir semua provinsi di Indonesia mengalami peningkatan pada kasus diabetes melitus. Provinsi Sumatera Barat tercatat jumlah kasus diabetes melitus 44.280 kasus, kasus tertinggi berada di Padang dengan jumlah 12.231 kasus. Komplikasi kronik atau jangka panjang penyakit diabetes melitus adalah ulkus diabetikum (Rizky, 2015).

Ulkus diabetikum adalah luka terbuka non traumatis pada kulit (sebagian atau seluruh lapisan) pada kaki penderita diabetes melitus (Mariam *et al.*, 2017). Prevalensi penderita ulkus diabetikum di Indonesia sekitar 15%, angka amputasi 30%, selain itu angka kematian 1 tahun pasca amputasi sebesar 14,8%. Hal ini didukung oleh data Riskesmas (2018) bahwa terjadi kenaikan jumlah penderita ulkus diabetikum di Indonesia yang terlihat dari kenaikan prevalensi sebanyak 11%.

Penyembuhan luka diabetikum merupakan suatu proses yang melibatkan respon seluler dan biokimia baik secara lokal maupun sistemik, melibatkan proses dinamis dan kompleks dari koordinasi antara pendarahan, koagulasi, inisiasi respon inflamasi akut segera setelah trauma, regenerasi, migrasi, proliferasi jaringan ikat, sel parenkim, serta sintesis protein matriks ekstraselular, remodeling jaringan ikat serta deposisi kolagen (Arndt *et al.*, 2013). Keterlambatan penyembuhan ulkus diabetikum disebabkan oleh faktor yang kompleks seperti berkurangnya migrasi keratinosit, fibroblas, proliferasi, diferensiasi, apoptosis, vaskularisasi serta peningkatan produksi sitokin proinflamasi seperti TNF alfa, IL-1 beta (Xu *et al.*, 2013).

TNF- α berperan sebagai mediator utama dalam memicu dan mempertahankan respons inflamasi. Produksi TNF- α yang berlebihan dapat menyebabkan peradangan yang berkepanjangan, yang berpotensi merusak jaringan sehat di sekitar luka dan memperlambat proses penyembuhan, dengan menghambat TNF- α , respons inflamasi dapat dikendalikan, sehingga peradangan tetap berada pada tingkat yang tepat untuk mendukung penyembuhan tanpa menyebabkan kerusakan jaringan lebih lanjut (Pocino *et al.*, 2024)

Kondisi hiperglikemik pada diabetes berpotensi mempengaruhi fungsi sel endotel normal sehingga mengganggu angiogenesis (Yusmin *et al.*, 2017). Pada luka diabetes proses inflamasi menjadi kronis dan tidak dapat berkembang ke fase granulasi karena ketidak seimbangan antara *reactive oxygen species* (ROS) dan stres oksidatif yang menyebabkan peroksidasi lipid dan gangguan fibroblas serta endotel fungsi sel (Masood *et al.*, 2019). Temuan terbaru telah mengaitkan stres oksidatif dengan gangguan penyembuhan luka (Dunnil *et al.*, 2017).

Sel yang paling berperan dari semua proses penyembuhan luka adalah sel makrofag, yang berfungsi mensekresi sitokin pro-inflamasi, anti-inflamasi, growth factors dan fibroblast kemudian diikuti oleh sel-sel keratinosit kulit untuk membentuk lapisan paling luar dan bermigrasi membentuk re-epitelialisasi dan menutupi area luka sehingga bisa melindungi kulit (Faten Khorshid *et al.*, 2010).

Sitokin yang disekresi sel limfosit juga berfungsi untuk mensekresi faktor-faktor inflamasi dan melepaskan berbagai faktor pertumbuhan yang potensial seperti *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), *Matrix Metalloproteinase* (MMP) sitokin dan kemokin. Mediator ini sangat dibutuhkan pada penyembuhan luka untuk memicu penyembuhan sel, diferensiasi dan mengawali pemulihan jaringan yang rusak (Rossi *et al.*, 2016)

VEGF berfungsi sebagai faktor pertumbuhan yang memicu migrasi dan proliferasi sel endotel, yang membentuk dinding pembuluh darah baru. Angiogenesis merupakan proses kunci dalam penyembuhan luka karena pembuluh darah baru yang terbentuk akan membawa oksigen dan nutrisi ke area luka, mempercepat regenerasi sel dan pembentukan jaringan baru (Johnson and Wilgus., 2014). MMP-2 diketahui berperan dalam degradasi komponen matriks ekstraseluler, yang diperlukan untuk memfasilitasi migrasi sel dan pembentukan jaringan baru selama penyembuhan luka (Pg-Macaw *et al.*, 2007). Pada luka diabetes, regulasi MMP-2 sering mengalami gangguan, hiperglikemia mengganggu ekspresi MMP pada diabetes (Sandra *et al.*, 2016).

Perawatan luka diabetikum dapat dilakukan dengan cara lokal dengan dressing dan debridement berulang dari jaringan nekrotik. Namun hasil pengobatannya tidak begitu signifikan dengan kejadian 14-12 % dengan

diamputasi, pengobatan yang terus dikembangkan adalah mengatasi respon inflamasi dan faktor pertumbuhan yang terlibat (Hong *et al.*, 2014)

Pengobatan tradisional terus dikembangkan sebagai alternatif untuk perawatan luka untuk memenuhi beberapa keterbatasan di bawah pengobatan modern. Ketersediaan pengobatan berbasis tradisional dalam manajemen luka saat ini memberikan kondisi yang seimbang untuk percepatan proses penyembuhan sebagai anti-inflamasi, mempercepat faktor pertumbuhan dan migrasi sel (Ruben dan Paulo, 2013)

Bahan alternatif dari alam yang biasa digunakan untuk penyembuhan luka adalah minyak kelapa murni (*Virgin Coconut Oil*) (Adam., 2008). Minyak kelapa murni diproduksi dari santan kelapa dengan cara mekanis atau alami tanpa pemanasan, tanpa penyulingan kimia, pemutihan, dan pewarnaan (Soorya *et al.*, 2021). *Virgin Coconut Oil* (VCO) adalah minyak tak jenuh dengan asam lemak rantai sedang (MCFA= *Medium Chain Fatty Acid*) seperti asam laurat yang memiliki aktivitas antiinflamasi dan antibakteri (Ariffin *et al.*, 2016). Selain mengandung asam lemak rantai sedang VCO memiliki kandungan polifenol yang memiliki aktifitas antiinflamasi dan stress oksidatif (Hayatullina *et al.*, 2012).

Polifenol utama yang diidentifikasi dalam VCO adalah ferulat yang dilaporkan sebagai molekul kuat yang memiliki antioksidan dan aktivitas anti-inflamasi (Gerin *et al.*, 2016). Analisis LC-MS dari VCO membuktikan adanya asam syringic yang juga merupakan fitokimia alami yang memiliki anti-inflamasi potensial (Ham *et al.*, 2016). Penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa VCO mengurangi peradangan yang disebabkan oleh etil fenilpropionat pada tikus dan edema kaki yang diinduksi karagenan dan asam arakidonat pada mencit

(Intahphuak *et al.*, 2010). VCO menunjukkan efek penghambatan pada peradangan kronis dengan mengurangi pembentukan granuloma dan aktivitas serum alkaline phosphatase (Vysakh *et al.*, 2014). Penelitian Nair (2016) menunjukkan bahwa pemberian FVCO menghambat peradangan kronis yang dipicu oleh formalin dan toksisitas sistemik yang diinduksi siklofosamid (CTX) di model praklinis. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa suplementasi FVCO mengurangi toksisitas ginjal yang disebabkan oleh metotreksat pada tikus oleh potensi antioksidan dan anti-inflamasi (Famurewa *et al.*, 2017).

Hasil penelitian Jansen (2019) menunjukkan bahwa VCO efektif untuk meningkatkan proliferasi sel dan proses penyembuhan luka. FVCO secara signifikan meningkatkan kemampuan migrasi sel CCD-18 dan RGC-5 dalam penyembuhan luka (Ahmad *et al.*, 2017). Hasil penelitian Nevin (2010) menjelaskan VCO mempengaruhi peningkatan proliferasi fibroblas dan neovaskularisasi pada luka bakar. Luka yang diberi VCO mengalami peningkatan kolagen dengan demikian VCO telah terbukti mendukung penyembuhan luka (Santiago *et al.*, 2014).

Hasil penelitian lain juga menunjukan bahwa VCO dan HVCO meningkatkan ekspresi protein MMP-9, PDGF-BB, TGF beta dalam penyembuhan luka. Ekspresi MMP 9, PDGF-BB, TGF beta yang meningkat akan mempengaruhi proliferasi, migrasi, angiogenesis yang berperan dalam proses penyembuhan luka. Secara spesifik MMP 9 memecah kolagen tipe IV yang berperan untuk memfasilitasi sel edotel pembuluh darah, PDGF-BB secara *chemotactic* menarik fibroblast, neutrofil, monosit, sel otot polos ke luka, mengaktifkan makrofag untuk melepaskan faktor pertumbuhan sedangkan TGF

beta bertindak sebagai *chemoattractant* yang ampuh untuk makrofag, mitogen untuk fibroblast, merangsang proliferasi berbagai sel dan mempromosikan pembenteukan jaringan baru (Dian eka *et al.*, 2019)

Selain *virgin coconut oil*, jintan hitam juga sudah dijadikan pengobatan alternatif dalam penyembuhan luka. Jintan hitam mengandung asam lemak dan *volatil oil* yang memiliki berbagai efek terapeutik terutama dikaitkan dengan anti-inflamasi, antioksidan, antikanker, antibakteri, nefroprotektif, dan sifat neuroprotektif yang telah terungkap dalam berbagai studi *in vivo* (Cascella *et al.*, 2018). Efek positif minyak jintan hitam dalam penyembuhan luka terutama disebabkan oleh induksi angiogenesis, peningkatan proliferasi fibroblas, dan sintesis kolagen (Shani *et al.*, 2013). Minyak jintan hitam memberikan efek positif pada proses epitelisasi, proses jaringan granulasi, meningkatkan vaskularisasi dan menghambat peradangan selama penyembuhan luka (Kumanda *et al.*, 2019). Minyak jintan hitam telah dilaporkan dapat mengurangi kerusakan jaringan (Abu-Al Basal *et al.*, 2011)

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Khader (2014) ada empat khasiat dari minyak jintan hitam seperti anti inflamasi, antioksidan, antikanker, dan hepatoprotektif (Khader *et al.*, 2014). Minyak jintan hitam mempercepat penyembuhan luka dan lebih baik pada saat di kombinasi dengan madu (Han *et al.*, 2017). Minyak jintan hitam memberikan efek penyembuhan luka karena sifat antioksidan, antifilamasi dan antibakteri (Yaman *et al.*, 2010). Penelitian yang dilakukan oleh Elgohary (2018) menjelaskan minyak jintan hitam mempercepat penyembuhan luka.

Penelitian tentang kombinasi VCO dan minyak jintan hitam untuk penyembuhan ulkus diabetikum belum pernah dilakukan. Berdasarkan latar belakang diatas maka peneliti telah melakukan penelitian dengan judul efek kombinasi *Virgin Coconut Oil (VCO)* dan minyak jintan hitam (*Nigela Sativa*) terhadap ekspresi gen TNF α , VEGF, dan MMP 2 serta gambaran histologi pada penyembuhan luka tikus model ulkus diabetikum.

1.2 Rumusan Penelitian

Berdasarkan uraian latar belakang penelitian di atas, maka rumusan masalah penelitian adalah sebagai berikut:

1. Apakah pemberian kombinasi VCO dan minyak jintan hitam dapat mempengaruhi histologi selama proses penyembuhan luka pada tikus model ulkus diabetikum?
2. Apakah pemberian kombinasi VCO dan minyak jintan hitam dapat mempengaruhi ekspresi gen TNF α pada penyembuhan luka pada tikus model ulkus diabetikum ?
3. Apakah pemberian kombinasi VCO dan minyak jintan hitam dapat mempengaruhi ekspresi gen VEGF pada penyembuhan luka pada tikus model ulkus diabetikum ?
4. Apakah pemberian kombinasi VCO dan minyak jintan hitam dapat mempengaruhi ekspresi gen MMP2 pada penyembuhan luka pada tikus model ulkus diabetikum ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengkaji efek kombinasi VCO dan minyak jintan hitam terhadap perubahan histologi yang terjadi selama penyembuhan luka pada tikus model ulkus diabetikum.
2. Mengkaji efek kombinasi VCO dan minyak jintan hitam terhadap ekspresi gen TNF α , pada penyembuhan luka tikus model ulkus diabetikum
3. Mengkaji efek kombinasi VCO dan minyak jintan hitam terhadap ekspresi gen VEGF pada penyembuhan luka tikus model ulkus diabetikum
4. Mengkaji efek kombinasi VCO dan minyak jintan hitam terhadap ekspresi gen MMP 2 pada penyembuhan luka tikus model ulkus diabetikum

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah untuk memperoleh informasi ilmiah tentang pengaruh pemberian kombinasi VCO dan minyak jintan hitam dalam mempengaruhi ekspresi gen TNF α , ekspresi gen VEGF dan ekspresi gen MMP 2 pada penyembuhan luka tikus model ulkus diabetikum dan memberikan gambaran histologi yang terjadi selama penyembuhan luka pada tikus model ulkus diabetikum.