

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes mellitus (DM) adalah penyakit kronis yang ditandai dengan hiperglikemia puasa dan/atau postprandial dengan kadar glukosa plasma berada di atas batas yang ditentukan (Kumar, 2016) yaitu ≥ 126 mg/dl atau kadar gula darah 2 jam setelah makan ≥ 200 mg/dl (American Diabetes Association, 2016). Diabetes mellitus digolongkan menjadi empat yaitu diabetes mellitus tipe I (IDDM), diabetes mellitus tipe II (NIDDM), diabetes gestasional (GDM), dan diabetes spesifik yang disebabkan oleh faktor genetik. Diabetes gestasional merupakan intoleransi terhadap glukosa yang mulai terdiagnosis saat kehamilan (Mahesh *et al.*, 2016). Diabetes mellitus tipe I disebabkan oleh kelainan autoimun sehingga sel β pankreas rusak dan insulin tidak diproduksi, biasanya dipengaruhi oleh faktor genetik. Diabetes mellitus tipe II disebabkan oleh resistensi insulin atau insensitivitas jaringan terhadap insulin. Obesitas merupakan faktor utama pada penyakit ini (Husen *et al.*, 2018). Resistensi insulin pada penderita obesitas disebabkan oleh efek toksik dari peningkatan akumulasi lipid, yang mengganggu proses pensinyalan insulin antara aktivasi reseptor dan efek seluler. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa individu dengan obesitas memiliki jumlah reseptor insulin lebih sedikit dalam otot, jaringan adiposa dan hati (Kumar, 2016).

Diabetes mellitus tipe II merupakan tipe DM yang paling umum dan menyumbang hampir 95% dari semua kasus. Diabetes mellitus tipe II seringkali tidak terdiagnosis selama bertahun-tahun karena hiperglikemia berkembang secara

bertahap (Gospin, 2017). Pada tahun 2017, Indonesia menempati peringkat ke enam di dunia untuk penderita diabetes tertinggi setelah China, India, Amerika Serikat, Brazil, dan Mexico. Jumlah penderita diabetes di Indonesia pada usia dewasa (18-99) diperkirakan sebanyak 10.578.401 jiwa dengan 7.794.166 kasus yang belum terdiagnosa dan 133.909 kasus kematian dari komplikasi DM. Diperkirakan satu dari 17 orang dewasa di Indonesia menderita DM (International Diabetes Federation, 2017). Terdapat beberapa komplikasi DM diantaranya ketoasidosisretinopati, nefropati, neuropati, penyakit kardiovaskular, penyakit gastrointestinal, disfungsi seksual pria, dan *diabetic foot ulcer* (DFU) (Ullah *et al.*, 2016). *Diabetic foot ulcer* merupakan luka terbuka yang sukar penyembuhannya dikarenakan gangguan metabolisme penyembuhan luka (Shavelson *et al.*, 2017).

Penyembuhan luka setelah kerusakan pada kulit melibatkan interaksi yang kompleks antara banyak komponen seluler kulit, terutama keratinosit, fibroblas, sel endotel pembuluh dan sel imun yang direkrut, dan matriks ekstraselulernya yang terkait (Martin & Nunan, 2015). Proses penyembuhan luka terdiri dari beberapa tahap yaitu koagulasi dan haemostasis, inflamasi, *proliferative*, dan *remodelling*. Koagulasi dan haemostasis berlangsung segera setelah luka terjadi. Pada tahap ini terjadi vasokonstriksi pembuluh darah yang terluka, endotelium serta *platelet* di dekatnya mengaktifkan bagian intrinsik dari kaskade koagulasi. Pembentukan gumpalan berfungsi untuk mencegah kehilangan darah dan nantinya berfungsi sebagai matriks untuk sel – sel yang diperlukan pada tahap – tahap selanjutnya (Velnar *et al.*, 2009). Gumpalan yang terbentuk terbuat dari kolagen, trombosit,

trombin, dan fibronectin, dan faktor-faktor ini melepaskan sitokin dan *growth factor* yang memicu respons inflamasi (Broughton *et al.*, 2006).

Segera setelah gumpalan fibrin terbentuk, sinyal seluler dihasilkan yang menghasilkan respons neutrophil dan penyembuhan luka masuk ke tahap inflamasi. Ketika mediator inflamasi menumpuk, prostaglandin diuraikan dan pembuluh darah di dekatnya mengalami vasodilatasi untuk memungkinkan peningkatan lalu lintas seluler ketika neutrofil ditarik ke daerah yang terluka. Neutrofil mengekspresikan banyak sitokin *proinflamasi* dan sejumlah besar zat antimikroba yang sangat aktif, seperti *reactive oxygen species* (ROS), peptida kationik, dan protease pada luka (Gonzalez *et al.*, 2016). Neutrofil melakukan fagositosis untuk menghancurkan dan menghilangkan bakteri, partikel asing, dan jaringan rusak yang kemudian dihancurkan dengan enzim dan ROS seperti H₂O₂ (Dunnill *et al.*, 2015). Monosit dalam darah dan jaringan terdekat tertarik ke area luka dan mengalami transformasi menjadi makrofag, biasanya sekitar 48 hingga 96 jam setelah luka terjadi. Makrofag yang telah teraktivasi akan memediasi pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis) (Broughton *et al.*, 2006). Sel – sel makrofag juga menghasilkan beberapa *growth factor* yang berperan dalam aktivasi keratinosit, fibroblas dan sel endotel (Velnar *et al.*, 2009).

Ketika cedera yang sedang berlangsung telah berhenti, haemostasis telah dicapai dan respon imun berhasil terlaksana, penyembuhan luka berlanjut pada tahap *proliferative*. Tahap *proliferative* ditandai oleh migrasi fibroblas dan deposisi *extracellular matrix* (ECM) yang baru disintesis yang bertindak sebagai pengganti jaringan sementara yang terdiri dari fibrin dan fibronectin. Tahapan ini dapat dibagi

menjadi beberapa proses yaitu migrasi fibroblas, sintesis kolagen, angiogenesis dan pembentukan jaringan granulasi, dan epitalisasi. Setelah tahap *proliferative* selesai, penyembuhan luka berlanjut pada tahap *remodelling*. Sebagai fase terakhir penyembuhan luka, fase *remodelling* bertanggung jawab untuk pengembangan epitel baru dan pembentukan jaringan parut akhir (Velnar *et al.*, 2009). Tujuan dari tahap remodeling adalah untuk mencapai kekuatan peregangan maksimum melalui reorganisasi, degradasi, dan resintesis ECM. Tahap ini ditandai perubahan pada ECM dan penyelesaian peradangan awal. Segera setelah permukaan luka ditutupi oleh lapisan tunggal keratinosit, migrasi epidermal berhenti dan epidermis berstrata baru dengan lamina basal yang berdekatan ditegakkan kembali dari perbatasan luka ke bagian dalam luka. Pada tahap ini, terdapat pengendapan matriks dan perubahan dalam komposisinya. Dengan penutupan luka, kolagen tipe III mengalami degradasi, dan sintesis kolagen tipe I meningkat. Sepanjang *remodelling*, ada pengurangan asam hialuronat dan fibronektin, yang terdegradasi oleh sel-sel dan metaloproteinase plasmatik, dan ekspresi perkembangan kolagen tipe I (Gonzalez *et al.*, 2016).

Sangat banyak agen terapeutik yang telah diteliti dalam penyembuhan luka diabetes (Patel *et al.*, 2019), namun hanya terapi *platelet derived growth factor* (PDGF) yang telah disetujui untuk pengobatan luka diabetik manusia, dengan opsi lain protein rekombinan yang mahal dan diperlukan dalam jumlah besar. Karena cairan luka diabetik bersifat proteolitik dan mampu mendegradasi *growth factor*, dibutuhkan *growth factor* rekombinan dalam jumlah besar (Blakytyn & Jude, 2009). Selain pengobatan menggunakan PDGF, luka diabetik kronis juga diobati

dengan pembedahan dan *Hyperbaric Oxygen Treatment* (HBO). *Hyperbaric Oxygen Treatment* menggunakan oksigen bertekanan 100%, yang dikirim ke dalam *full body chamber*. (Shavelson *et al.*, 2017).

Eksudat luka berasal dari ekstrasvasasi serum pada fase inflamasi. Eksudat memiliki kandungan protein yang tinggi, fibrin, trombosit, limfosit dan makrofag untuk pertahanan kekebalan, dan beberapa *growth factor* saat penyembuhan berlangsung. Eksudat terdiri dari sejumlah komponen yang bekerja dengan jaringan sekitar untuk proses penyembuhan luka. Pada individu dengan diabetes, gangguan fisiologis dan berbagai komplikasi yang saling bersilangan dapat mengakibatkan ketidakseimbangan eksudat dan produksi berlebih yang memperlambat atau bahkan mencegah proliferasi sel, mengganggu ketersediaan *growth factor*, dan mengandung mediator inflamasi dan matrix metaloproteinase (MMP) dengan kadar berbahaya (Vowden & Vowden, 2004).

Manajemen eksudat yang efektif sangat penting dalam pengelolaan ulkus kaki diabetik. Eksudat luka kronis mengandung mediator inflamasi tingkat tinggi dan MMP yang aktif (World Union of Wound Healing Societies, 2007). Jika tidak dikelola secara efektif, kehadirannya dapat menghambat penyembuhan dan merusak lapisan luka dan jaringan di sekitarnya (Romanelli *et al.*, 2010). Kelebihan eksudat dapat menyebabkan maserasi pada tepi luka dan jaringan yang mengelilingi luka, yang dapat menghambat *debridement* efektif dan selanjutnya menyebabkan kerusakan luka lebih lanjut (Foster, 2006; Speak, 2014). Alginat diakui efektif untuk penyerapan dan retensi eksudat, dan telah diuji bahwa alginat dapat menyerap antara 15-20 kali beratnya (Jones, 1999).

Sargassum ilicifolium dan *Sargassum duplicatum* merupakan alga coklat penghasil alginat yang tersebar luas di perairan Indonesia (Widyartini *et al.*, 2012). Alginat dalam bentuk alami merupakan konstituen dinding sel alga coklat (phaeophyceae) (Yorke & Spruce, 2012). Alginat memiliki struktur dasar yang terdiri dari 2 monomer yaitu asam manuronik (M) dan asam guluronik (G). Kedua monomer tersebut berikatan satu sama lain dengan susunan dan jumlah tertentu membentuk polimer (Laroche & Michaud, 2008). Jumlah dan susunan kedua monomer tersebut berbeda pada alginat dari spesies yang berbeda, dan biasanya dibandingkan menggunakan nilai rasio M : G. Rasio M: G adalah indeks sifat gel yang diproduksi, oleh karena itu alginat dengan rasio M: G yang rendah (<1) sesuai dengan nilai guluronik (G) yang tinggi daripada blok asam manuronat (M) yang membentuk gel yang kuat dan kaku, rasio M: G yang tinggi (> 1) terkait dengan nilai rendah blok asam guluronat yang menghasilkan gel lunak dan elastis. Rasio M: G dapat bervariasi dalam rumput laut coklat karena heterogenitas antara panjang rantai dan distribusi blok G dan M (García-Ríos *et al.*, 2012). Selain memiliki daya serap yang baik, alginat juga memiliki sifat antiseptik ringan, *biodegradable*, dan bersifat non-toksik (Sun & Tan, 2013). Menurut penelitian oleh Ilmi (2019), alginat dari *S.ilicifolium* dan *S.duplicatum* memiliki potensi antioksidan sedang dengan nilai IC₅₀ 120,88 dan 125,31 µg/mL.

Lebih dari 100 faktor fisiologis diketahui berkontribusi pada gangguan penyembuhan luka individu dengan diabetes. Beberapa faktor tersebut yaitu penurunan atau gangguan produksi *growth factor*, respons angiogenik, fungsi makrofag, akumulasi kolagen, fungsi penghalang epidermal, jumlah jaringan

granulasi, migrasi dan proliferasi keratinosit dan fibroblas, jumlah saraf epidermis, dan keseimbangan antara akumulasi komponen ECM dan renovasi ECM oleh matrix metalloproteinase (MMP) (Brem & Tomic-Canic, 2007). Salah satu komponen utama dalam penyembuhan luka adalah ROS. Jumlah ROS yang seimbang berperan dalam redox signaling pada penyembuhan luka, namun kadar ROS yang berlebihan dapat mengganggu proses penyembuhan luka dalam banyak aspek (Brownlee, 2005; Blakytyn & Jude, 2009; Warren & Elasy, 2009; André-Lévigne *et al.*, 2017; Patel *et al.*, 2019).

Abelmoschus esculentus (okra) dan *Garcinia mangostana* (manggis) merupakan buah dengan kandungan antioksidan yang tinggi dibandingkan buah lain dan beberapa antioksidan komersil (Suttirak & Manurakchinakorn, 2014). Okra memiliki senyawa antioksidan quercetin beserta turunannya (Roy *et al.*, 2014). Okra juga terbukti memiliki aktivitas antihiperlipidemi dan antihiperqlikemi (Husen *et al.*, 2019). Ekstrak buah okra tidak bersifat toksik bagi tubuh dengan LD₅₀ >5 g/kg BB (Ortaç *et al.*, 2018). Ekstrak etanol dari kulit buah manggis menunjukkan tingkat antioksidan yang tinggi dengan IC₅₀ 40.835 mg/kg BB dan LD₅₀ 630.95 mg/kg BB (Husen *et al.*, 2017). Senyawa dengan aktivitas antioksidan pada manggis yaitu xanthon, α -mangostin, dan γ -mangostin, mencegah tahap inflamasi yang berkepanjangan dengan mereduksi sitokin, *growth factor*, dan senyawa – senyawa yang berperan dalam tahap inflamasi (Tousian *et al.*, 2017). Kedua buah tersebut telah banyak digunakan sebagai obat tradisional dalam pengaturan tekanan darah, lemak, diabetes, kelainan urogenital disentri kronis, gondok dan *ulcer* (Abidi *et al.*, 2018) dan upaya pencegahan dan penyembuhan

beberapa penyakit seperti diabetes, penyakit kardiovaskular, obesitas, hiperlipidemia, stroke dan kanker (Fan *et al.*, 2014).

Sampai saat ini masih sedikit penelitian mengenai efek bahan – bahan diatas terhadap penyembuhan luka diabetik, dan belum ada penelitian mengenai penyembuhan luka diabetik yang menggunakan kombinasi topikal dari alginat *Sargassum ilicifolium*, *Sargassum duplicatum*, ekstrak kulit buah okra, dan ekstrak buah manggis. Melihat potensi yang dimiliki bahan – bahan tersebut, perlu dilakukan penelitian mengenai uji aktivitas kombinasi alginat *Sargassum ilicifolium*, *Sargassum duplicatum*, ekstrak buah okra, dan ekstrak kulit buah manggis.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah yang diajukan pada penelitian ini adalah:

1. Apakah pemberian ekstrak alginat *Sargassum ilicifolium* dengan ekstrak etanol buah okra dan ekstrak etanol kulit buah manggis dapat mempercepat proses penyembuhan luka pada kulit mencit diabetik dengan menurunkan jumlah neutrofil dan makrofag sehingga fase inflamasi tidak berkepanjangan, meningkatkan jumlah fibroblas, fibrosit, serta meningkatkan persentase densitas kolagen?
2. Apakah pemberian ekstrak alginat *Sargassum duplicatum* dengan ekstrak etanol buah okra dan ekstrak etanol kulit buah manggis dapat mempercepat proses penyembuhan luka pada kulit mencit diabetik dengan menurunkan jumlah neutrofil dan makrofag sehingga fase inflamasi tidak

berkepanjangan, meningkatkan jumlah fibroblas, fibrosit, serta meningkatkan persentase densitas kolagen?

3. Apakah terdapat perbedaan pada pemberian ekstrak alginat *Sargassum ilicifolium* dengan ekstrak etanol buah okra dan ekstrak etanol kulit buah manggis dengan pemberian ekstrak alginat *Sargassum duplicatum* dengan ekstrak etanol buah okra dan ekstrak etanol kulit buah manggis terhadap penyembuhan luka mencit diabetik?

1.3 Asumsi Penelitian

Hiperglikemi pada DM mengakibatkan peningkatan ROS. Peningkatan ROS menyebabkan gangguan pada proses penyembuhan luka yang berakibat tidak sempurnanya penutupan luka. Alginat yang memiliki potensi penyerapan eksudat luka dan antioksidan quercetin, flavonoid, α -mangostin, serta γ -mangostin yang memiliki aktivitas antioksidan diharapkan dapat menurunkan ROS dalam tubuh sehingga mampu mempercepat proses penyembuhan luka ke dalam keseimbangan pada kondisi diabetik.

1.4 Hipotesis Penelitian

1.4.1 Hipotesis kerja

Jika pemberian ekstrak alginat *Sargassum ilicifolium* dan *Sargassum duplicatum* dengan ekstrak etanol buah okra dan ekstrak etanol kulit buah manggis dapat mempercepat proses penyembuhan dan perbaikan luka terbuka pada mencit (*Mus musculus*) diabetik, maka pemberian ekstrak alginat *Sargassum ilicifolium* dan *Sargassum duplicatum* dengan ekstrak etanol buah okra dan ekstrak etanol kulit

buah manggis dengan dosis yang sama namun dalam jangka waktu yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda terhadap penyembuhan luka terbuka pada mencit (*Mus musculus*) diabetik.

1.4.2 Hipotesis statistik

Hipotesis statistik pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- H₀₁ : Pemberian ekstrak alginat *Sargassum ilicifolium* dengan ekstrak etanol buah okra dan ekstrak etanol kulit buah manggis tidak dapat mempercepat proses penyembuhan luka pada kulit mencit diabetik dengan menurunkan jumlah neutrofil dan makrofag sehingga fase inflamasi tidak berkepanjangan, meningkatkan jumlah fibroblas, fibrosit, serta meningkatkan persentase densitas kolagen.
- H_{A1} : Pemberian ekstrak alginat *Sargassum ilicifolium* dengan ekstrak etanol buah okra dan ekstrak etanol kulit buah manggis dapat mempercepat proses penyembuhan luka pada kulit mencit diabetik dengan menurunkan jumlah neutrofil dan makrofag sehingga fase inflamasi tidak berkepanjangan, meningkatkan jumlah fibroblas, fibrosit, serta meningkatkan persentase densitas kolagen.
- H₀₂ : Pemberian ekstrak alginat *Sargassum duplicatum* dengan ekstrak etanol buah okra dan ekstrak etanol kulit buah manggis tidak dapat mempercepat proses penyembuhan luka pada kulit mencit diabetik dengan menurunkan jumlah neutrofil dan makrofag sehingga fase inflamasi tidak

berkepanjangan, meningkatkan jumlah fibroblas, fibrosit, serta meningkatkan persentase densitas kolagen.

HA₂ : Pemberian ekstrak alginat *Sargassum duplicatum* dengan ekstrak etanol buah okra dan ekstrak etanol kulit buah manggis dapat mempercepat proses penyembuhan luka pada kulit mencit diabetik dengan menurunkan jumlah neutrofil dan makrofag sehingga fase inflamasi tidak berkepanjangan, meningkatkan jumlah fibroblas, fibrosit, serta meningkatkan persentase densitas kolagen.

H0₃ : Tidak terdapat perbedaan pada pemberian ekstrak alginat *Sargassum ilicifolium* dengan ekstrak etanol buah okra dan ekstrak etanol kulit buah manggis dengan pemberian ekstrak alginat *Sargassum duplicatum* dengan ekstrak etanol buah okra dan ekstrak etanol kulit buah manggis terhadap penyembuhan luka mencit diabetik.

HA₃ : Terdapat perbedaan pada pemberian ekstrak alginat *Sargassum ilicifolium* dengan ekstrak etanol buah okra dan ekstrak etanol kulit buah manggis dengan pemberian ekstrak alginat *Sargassum duplicatum* dengan ekstrak etanol buah okra dan ekstrak etanol kulit buah manggis terhadap penyembuhan luka mencit diabetik.

1.5 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak alginat *Sargassum ilicifolium* dengan ekstrak etanol buah okra dan ekstrak etanol kulit buah manggis terhadap percepatan proses penyembuhan luka dengan pengamatan jumlah

neutrofil, fibroblas, fibrosit, dan persentase densitas kolagen pada kulit mencit diabetik.

2. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak alginat *Sargassum duplicatum* dengan ekstrak etanol buah okra dan ekstrak etanol kulit buah manggis terhadap percepatan proses penyembuhan luka dengan pengamatan jumlah neutrofil, fibroblas, fibrosit, dan persentase densitas kolagen pada kulit mencit diabetik pada kulit mencit diabetik.
3. Mengetahui perbedaan pada pemberian ekstrak alginat *Sargassum ilicifolium* dengan ekstrak etanol buah okra dan ekstrak etanol kulit buah manggis dengan pemberian ekstrak alginat *Sargassum duplicatum* dengan ekstrak etanol buah okra dan ekstrak etanol kulit buah manggis terhadap penyembuhan luka mencit diabetik.

1.6 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian ekstrak alginat *Sargassum ilicifolium* dan *Sargassum duplicatum* dengan ekstrak etanol buah okra dan ekstrak etanol kulit buah manggis terhadap percepatan proses penyembuhan luka pada mencit diabetik, sehingga dapat menjadi salah satu metode pengobatan alami dari luka diabetik