

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Cedera kulit mengaktifkan respon fisiologis, yang terdiri dari fase inflamasi, proliferasi dan remodeling (Shi et al., 2021). Langkah-langkah ini melibatkan upaya terkoordinasi dari beberapa jenis sel, seperti keratinosit, fibroblas, sel endotel, makrofag, serta trombosit. Re-epitelisasi merupakan fenomena dalam proses pembentukan jaringan baru di mana keratinosit bermigrasi dari tepi luka ke pusat luka pada jaringan granulasi yang diregenerasi, dengan didorong oleh faktor pertumbuhan dan pelepasan sitokin dari tempat cedera (Koike et al., 2020). Pada manusia, keratinosit membentuk kembali epidermis fungsional (re-epitelisasi) secepat mungkin, menutup luka dan membangun kembali homeostasis jaringan. Sel fibroblas dermal (*Human Dermal Fibroblast/HDF*) bermigrasi ke dasar luka dan berproliferasi, menciptakan jaringan granulasi yang kaya akan protein matriks ekstraseluler dan mendukung pertumbuhan pembuluh darah baru. Pada akhirnya akan dirombak dalam waktu yang lama, mengembalikan jaringan yang cedera ke keadaan yang serupa dengan sebelum cedera. Disregulasi dalam setiap fase kaskade penyembuhan luka menunda penyembuhan dan dapat menyebabkan berbagai patologi kulit (Shedoeva et al., 2019). Obat-obatan tradisional saat ini banyak dimanfaatkan untuk mempercepat proses penyembuhan luka, salah satunya berasal dari tanaman sambiloto.

Sambiloto (*Andrographis paniculata*) berasal dari keluarga *Acanthaceae* yang merupakan salah satu bahan tradisional yang digunakan masyarakat Indonesia untuk mengatasi peradangan. Sambiloto memiliki aktivitas farmakologis seperti berperan pada penyembuhan luka di kulit, agregasi anti-platelet, imunomodulator, hepatoprotektif, sitotoksitas terhadap sel kanker, anti-inflamasi, anti-angiogenik, anti-malaria, anti-diabetes, serta anti-venom (Rahmi et al., 2022). Pada studi fitokimia sambiloto, ditemukan senyawa bioaktif utama, yaitu *andrographolide*, diterpenoid, flavonoid, asam kuintat (*quinic acid*), *xanthone*, dan ekstrak noriridoid (Zou et al.,

2016). *Andrographolide* diserap dengan cepat dan ditemukan tidak beracun bahkan pada dosis yang sangat tinggi pada hewan serta ditoleransi dengan baik oleh manusia tanpa efek samping yang serius pada dosis dalam kisaran 1 hingga 2 mg/kg/hari (Low et al., 2015). Pada penelitian sebelumnya, proses penutupan luka yang di amati pada tikus, mengalami peningkatan secara signifikan setelah pengobatan dengan 10% ekstrak daun sambiloto. Hewan yang diobati dengan sambiloto menunjukkan peradangan dan jaringan parut yang berkurang, peningkatan angiogenesis, serta peningkatan jumlah serat kolagen pada luka yang telah sembuh (Shedoeva et al., 2019). Pada penelitian sebelumnya, sambiloto telah diketahui berperan dalam inflamasi dengan menurunkan sitokin pro-inflamasi, IL-6 yang dikeluarkan oleh fibroblas, sehingga sambiloto dapat menekan terjadinya inflamasi lebih lanjut (Mussard et al., 2019).

Fibroblas memiliki peran penting dalam penyembuhan luka sebagai respons terhadap cedera jaringan. Sel ini merespon penyembuhan luka dengan berproliferasi dan dengan melakukan kemotaksis ke lokasi cedera jaringan untuk membangun kembali matriks ekstraseluler sebagai *scaffold* untuk regenerasi jaringan. Transisi fibroblas ke miofibroblas memungkinkan kontraksi matriks untuk menutup luka terbuka, jika terjadi kehilangan jaringan (Kendall & Feghali-Bostwick, 2014). Fibroblas juga merupakan sumber seluler utama sitokin dan kemokin inflamasi yang memungkinkan inflamasi jaringan yang kronis (Wei et al., 2021). Fibroblas mensekresi sejumlah sitokin, salah satunya IL-6, yang memediasi proses inflamasi dan fibrosis (Kendall & Feghali-Bostwick, 2014). IL-6 berperan meningkatkan produksi matriks ekstraseluler dan proliferasi sel (Zhang et al., 2021). Selain mensekresi sitokin, fibroblas juga mensekresi sejumlah faktor pertumbuhan, salah satunya *Keratinocytes Growth Factor* (KGF). KGF yang dihasilkan fibroblas, berperan pada proses re-epitelisasi saat proses penyembuhan luka. Tahap re-epitelisasi ini sangat penting, untuk mencapai penyembuhan yang optimal (Russo et al., 2020). Untuk mengamati tahap-tahap inflamasi tersebut pada kultur *in vitro*, dibutuhkan model inflamasi pada sel.

Salah satu yang dapat digunakan untuk induksi inflamasi pada sel, yaitu lipopolisakarida (LPS).

LPS adalah komponen utama dinding sel bakteri Gram-negatif dan dapat menyebabkan respons inflamasi akut dengan memicu pelepasan sejumlah besar sitokin inflamasi dalam berbagai jenis sel. LPS secara luas dikenal sebagai aktivator makrofag. Bakteri LPS telah secara konvensional digunakan untuk mempelajari inflamasi, karena banyaknya efek inflamasi yang dihasilkannya melalui pensinyalan *Toll-Like Receptor 4* (TLR4) (Tucureanu et al., 2018). LPS dapat mengaktifkan reseptor seperti TLR4 di HDF melalui *Nuclear Factor-Kappa B* (NF- κ B), yang mengarah pada produksi sitokin pro-inflamasi, yang pada gilirannya menyebabkan inflamasi (Kendall & Feghali-Bostwick, 2014). LPS pada bakteri telah banyak digunakan dalam model mempelajari inflamasi karena meniru banyak efek inflamasi dari sitokin, salah satunya IL-6 (Ngkelo et al., 2012).

Aktivitas anti-inflamasi sambiloto telah banyak diteliti, namun belum banyak diketahui bagaimana efek pemulihannya terhadap HDF yang di induksi inflamasi secara *in vitro*. Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek sambiloto pada HDF, yang ditinjau melalui viabilitas, migrasi, ekspresi sitokin IL-6, serta ekspresi KGF pada HDF.

1.2. Rumusan Masalah

Sambiloto merupakan salah satu bahan tradisional yang sering digunakan masyarakat Indonesia, salah satunya untuk penyembuhan luka. Sambiloto diketahui memiliki aktivitas farmakologis, salah satunya sebagai anti inflamasi. Pada cedera kulit, sitokin pro-inflamasi IL-6 di keluarkan oleh HDF. Selain berperan pada proses inflamasi, HDF juga mensekresi *Keratinocytes Growth Factor* (KGF), yang menstimulasi re-epitelisasi, pada saat proses penyembuhan luka kulit. Sambiloto diharapkan dapat berperan sebagai senyawa anti inflamasi dan menstimulasi re-epitelisasi, sehingga dapat membantu proses penyembuhan luka. Untuk mengamati

proses tersebut, dibutuhkan pengamatan kultur *in vitro*. Sel fibroblas dapat dibuat model inflamasi pada kultur *in vitro*, dengan induksi LPS. Perlakuan ekstrak sambiloto pada HDF yang di induksi inflamasi, diharapkan dapat menghambat proses inflamasi dan merangsang sekresi faktor pertumbuhan. Efek ekstrak sambiloto ditinjau dengan mengamati viabilitas, migrasi, ekspresi IL-6, serta ekspresi KGF pada HDF yang di induksi LPS.

Berdasarkan permasalahan yang dijabarkan di atas terdapat pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak metanol sambiloto dapat menurunkan viabilitas pada HDF yang di induksi LPS?
2. Apakah ekstrak metanol sambiloto dapat menurunkan migrasi pada HDF yang di induksi LPS?
3. Apakah ekstrak metanol sambiloto dapat menurunkan ekspresi sitokin IL-6 pada HDF yang di induksi LPS?
4. Apakah ekstrak metanol sambiloto dapat meningkatkan ekspresi KGF pada HDF yang di induksi LPS?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui apakah ekstrak metanol sambiloto dapat meningkatkan viabilitas, migrasi, ekspresi KGF, serta menurunkan ekspresi IL-6 pada HDF yang di induksi LPS secara *in vitro*.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui apakah ekstrak metanol sambiloto dapat menurunkan viabilitas pada HDF yang di induksi LPS.
2. Mengetahui apakah ekstrak metanol sambiloto dapat menurunkan migrasi pada HDF yang di induksi LPS.

3. Mengetahui apakah ekstrak metanol sambiloto dapat menurunkan ekspresi sitokin IL-6 pada HDF yang di induksi LPS.
4. Mengetahui apakah ekstrak metanol sambiloto dapat meningkatkan ekspresi KGF pada HDF yang di induksi LPS.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teori

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai data ilmiah tentang efek sambiloto terhadap viabilitas, migrasi, ekspresi IL-6, serta ekspresi KGF pada HDF yang di induksi LPS.

1.4.2. Manfaat Klinis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai tambahan referensi pada aplikasi klinis tentang efek sambiloto sebagai anti-inflamasi terhadap jaringan kulit yang rusak atau cedera.