

ARTIKEL PENELITIAN

Ekstrak Air Daun Kirinyu (*Chromolaena odorata*) Berpengaruh terhadap Ekspresi *Fibroblast Growth Factor-2* (FGF-2) pada Fase 2 Penyembuhan Luka pada Mencit (*Mus musculus*)

Desiree A Paramita^{1*}, Syamsul Rizal¹, Khairan², Syafrizal³, Rinaldi Idroes², Jessy Chrestella⁴

^{1*}Departemen Bedah Plastik dan Rekonstruksi, Fakultas Kedokteran, Universitas Syiah Kuala, RSUD dr. Zainoel Abidin, Indonesia

²Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia

³Departemen Ortopedi dan Traumatologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Syiah Kuala, RSUD dr. Zainoel Abidin, Indonesia

⁴Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara

Email korespondensi : desireeparamita@usu.ac.id

Abstrak: Ekspresi fibroblast Growth Factor-2 (FGF-2) pada fase 2 penyembuhan luka, dapat menggambarkan fase ini berjalan dengan baik, sehingga penelitian ini berfokus pada evaluasi efek ekstrak air daun Kirinyu (*Chromolaena odorata*) terhadap ekspresi *Fibroblast Growth Factor-2* (FGF-2) selama fase 2 penyembuhan luka pada tikus (*Mus musculus*), menyoroti pentingnya senyawa alami dalam perawatan medis. Pendekatan eksperimental laboratorium menggunakan desain acak lengkap diterapkan pada 28 tikus, yang dibagi menjadi empat kelompok, masing-masing menerima konsentrasi ekstrak air daun Kirinyu yang berbeda. Penilaian ekspresi FGF-2 dilakukan melalui analisis imunohistokimia. Penelitian ini menemukan bahwa ada efek ekstrak air daun kirinyu terhadap ekspresi FGF-2 pada akhir fase 2 penyembuhan luka pada tikus, sebagaimana dibuktikan oleh intensitas, persentase dan ekspresi FGF-2 yang signifikan. Dalam penelitian ini, konsentrasi 5% ekstrak air daun kirinyu (*Chormolaena odorata*) merupakan konsentrasi yang paling efektif dalam ekspresi FGF-2 pada akhir fase 2 penyembuhan luka pada tikus (*Mus musculus*). Peningkatan ekspresi FGF-2 menunjukkan potensi ekstrak air daun Kirinyu sebagai agen alami yang efektif untuk meningkatkan penyembuhan luka. Efek ini mungkin disebabkan oleh senyawa bioaktif yang ada dalam ekstrak, yang dapat meningkatkan aktivitas fibroblas dan proses penyembuhan lainnya. Ekstrak air daun Kirinyu menunjukkan potensi sebagai pilihan terapi alami untuk penyembuhan luka, menawarkan jalan yang menjanjikan untuk pengembangan pengobatan baru berdasarkan pengobatan tradisional.

Kata kunci: Ekstrak air daun kirinyu, FGF-2, penyembuhan luka, tikus, imunohistokimia.

PENDAHULUAN

Selama berabad-abad, penduduk asli Indonesia telah menggunakan beragam tanaman obat, seperti *Chromolaena odorata* (*C. odorata*), tanaman tropis yang termasuk dalam famili *Asteraceae*, untuk mengobati luka.^{1,2} Khususnya di daerah seperti Aceh, daun *C. odorata* telah digunakan secara tradisional karena khasiat obatnya dalam perawatan luka.^{1,2} Kandungan saponin yang tinggi pada tanaman ini memfasilitasi produksi kolagen selama penyembuhan luka, sementara flavonoidnya bertindak sebagai agen antiseptik dan antibakteri.^{1,2} *C. odorata*, semak berbunga dalam famili *Asteraceae*, menunjukkan sifat antibakteri, anti kanker, anti jamur, anti biofilm, dan anti hepatotoksik. Senyawa bioaktif yang berasal dari tanaman ini berkontribusi untuk menghambat proliferasi mikroorganisme patogen dalam luka. Ekstrak dari daun, akar, dan batang *C. odorata* kaya akan tanin, saponin, terpenoid, flavonoid, alkaloid, dan glikosida jantung.^{1,2}

Peningkatan ketebalan kolagen disebabkan oleh ekstrak etanol *C. odorata*, yang meningkatkan sintesis kolagen, memodulasi fase proliferasi penyembuhan luka, dan meningkatkan ekspresi FGF-2.^{3,4} Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dalam *C. odorata* memiliki sifat antioksidan yang mampu menurunkan kadar lipoprotein densitas rendah (LDL).^{3,4} Selain itu,

flavonoid meningkatkan proliferasi sel endotel vaskular, mengurangi pembentukan bekuan darah karena sifat anti plateletnya.^{3,4} Tanin yang ada dalam *C. odorata* memberikan efek biologis yang signifikan, berfungsi sebagai presipitan protein dan khelator logam.^{3,4}

Tanin dianggap berfungsi sebagai antioksidan biologis.^{5,6} Sebaliknya, saponin yang terdapat dalam *C. odorata* meningkatkan afinitas reseptor fibroblas terhadap TGF- β dan FGF-2, yang selanjutnya mendorong pengikatan fibroblas terhadap TGF- β dan meningkatkan sintesis FGF-2.^{5,6} Fibroblas memerlukan TGF- β untuk sintesis kolagen selama penyembuhan luka.^{5,6} Selain itu, saponin menunjukkan sifat anti inflamasi dengan menghambat biosintesis prostaglandin, yang menyebabkan penurunan kadar prostaglandin.^{5,6} Penurunan produksi prostaglandin ini, mediator inflamasi, memfasilitasi vasodilatasi pada pembuluh darah lokal, sehingga mengurangi migrasi sel inflamasi.^{5,6} Akibatnya, berkurangnya keberadaan sel inflamasi dan bakteri mempercepat transisi dari fase inflamasi ke fase proliferasi (fase 3) penyembuhan luka).^{5,6}

Dalam sebuah penelitian oleh Muzammil (2023, tidak dipublikasikan), dampak ekstrak air daun *C. odorata* terhadap kepadatan kolagen diteliti pada akhir fase 2 penyembuhan luka pada tikus (*Mus musculus*). Temuan tersebut

mengungkapkan bahwa konsentrasi 7,5% ekstrak air daun *C. odorata* memiliki efek yang dapat diabaikan ($p>0,05$), mencapai kepadatan kolagen sebesar 71% pada akhir fase 2 (hari ke-14).^{7,8} Sebaliknya, penelitian oleh Vijay (2017) menunjukkan bahwa konsentrasi 5% ekstrak air daun *C. odorata* menghasilkan peningkatan kolagen paling substansial pada hari ke-16 dan ke-21, yang sesuai dengan fase proliferasi penyembuhan luka.^{7,8}

Penelitian ini berfokus pada evaluasi efek ekstrak air daun Kirinyu (*Chromolaena odorata*) terhadap ekspresi *Fibroblast Growth Factor-2* (FGF-2) selama fase 2 penyembuhan luka pada tikus (*Mus musculus*), menyoroti pentingnya senyawa alami dalam perawatan medis.

METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen laboratorium dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan metode *Post-test Only Control Group Design*. Pada penelitian ini digunakan hewan uji berupa mencit (*Mus musculus*) jantan sebanyak 28 ekor. Hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok yang masing-masing terdiri dari 7 ekor mencit, yang terdiri dari 3 kelompok diberi perlakuan dan 1 kelompok tanpa perlakuan. Hasil sediaan kemudian dilakukan pemeriksaan ekspresi FGF 2 yaitu pemeriksaan imunohistokimia.

Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba akan dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Syiah Kuala. Laboratorium Herbarium

Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Syiah Kuala untuk uji herbarium dan pemeriksaan imunohistokimia serta histopatologi akan dilakukan di Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2023 – Januari 2024.

Hewan percobaan yang digunakan sebagai sampel penelitian adalah 28 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan sesuai dengan kriteria inklusi yaitu mencit (*Mus musculus*) jantan, berumur 2 – 3 bulan, berat badan 20 – 30 gram, kondisi sehat (aktif dan tidak cacat). Kriteria eksklusi yaitu mencit sakit (gerakan tidak aktif), kelainan anatomi, dan mencit mati.

C. Odorat diperoleh dari lahan pertanian di Calang, Aceh Jaya. Daun segar dicuci bersih dengan air mengalir dan dikeringkan di tempat yang bersih. Daun kering dilumatkan dan dimasukkan ke dalam akuades dengan perbandingan 1:2. Setelah 24 jam, maserasi dipisahkan dan residu direndam kembali dalam akuades selama 24 jam. Seluruh proses diulang untuk memastikan proses selesai. Maserasi 1, 2, dan 3 dikumpulkan, disaring dan disentrifugasi pada kecepatan 5000 g dan suhu 4 °C selama 30 menit. Setelah disentrifugasi, supernatan yang diperoleh dibekukan pada suhu -20 °C kemudian dikeringkan dalam keadaan beku. Ekstrak kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatmann, dan saringan diupkan menggunakan *rotary evaporator* hingga mencapai konsentrasi ekstrak yang diinginkan. Konsentrasi ekstrak air *C.*

odorata pada penelitian ini mengacu pada penelitian sebelumnya mengenai khasiat *C. odorata* dalam penyembuhan luka sayat pada mencit. Karena peneliti ingin melanjutkan penelitian sebelumnya, maka dosis yang digunakan sama dengan penelitian sebelumnya yaitu konsentrasi I ekstrak air *C. odorata* dengan konsentrasi 2,5%, konsentrasi II yaitu ekstrak air *C. odorata* dengan konsentrasi 5% dan konsentrasi III ekstrak air *C. odorata* dengan konsentrasi 7,5%.

Sebanyak 28 ekor hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan. Setelah adaptasi selama 2 hari, hewan coba diberikan perlakuan luka pada punggung kirinya. Dimulai dengan mencukur bulu punggung kiri tikus dengan luas 2 cm x 1 cm, kemudian dilanjutkan dengan desinfeksi pada punggung kiri tikus yang telah dicukur, dengan menggunakan alkohol 70%.

Selanjutnya, hewan coba diberikan anestesi dengan anestesi lokal dengan lidokain. Dibuat sayatan sepanjang 1,5 cm pada punggung sejajar dengan ruas tulang belakang, 3-4 cm dari telinga, hingga ke tepi fascia. Kemudian luka dijahit dengan menggunakan benang polipropilena 5-0 sebanyak 2 jahitan dengan jarak 5 mm. Tindakan diakhiri dengan pemberian ekstrak air *C. odorata*. Setiap kelompok perlakuan mendapat perlakuan sebagai berikut; Kelompok 1 (Negatif), yaitu hewan coba diberikan luka pada punggung kiri dan dibiarkan selama 21 hari. Kelompok 2 (Perlakuan 1), yaitu hewan coba diberi luka pada punggung kiri dan diberi ekstrak air *C. odorata* dengan konsentrasi 2,5%.

Kelompok 3 (Perlakuan 2), yaitu hewan coba diberi luka pada punggung kiri dan diberi ekstrak air *C. odorata* konsentrasi 7,5%. Ekstrak air *C. odorata* diberikan 1 tetes setiap hari menggunakan pipet tetes setelah dilakukan sayatan pada punggung mencit dan ditutup dengan kasa steril. Hasil yang diperoleh diamati dengan mengamati penyembuhan luka sayatan secara makroskopis dan ekspresi FGF-2 pada luka menggunakan pengamatan mikroskopis.

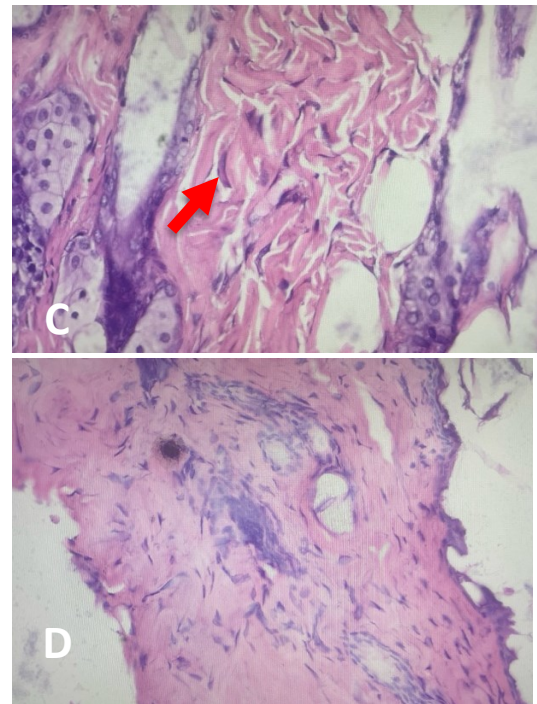
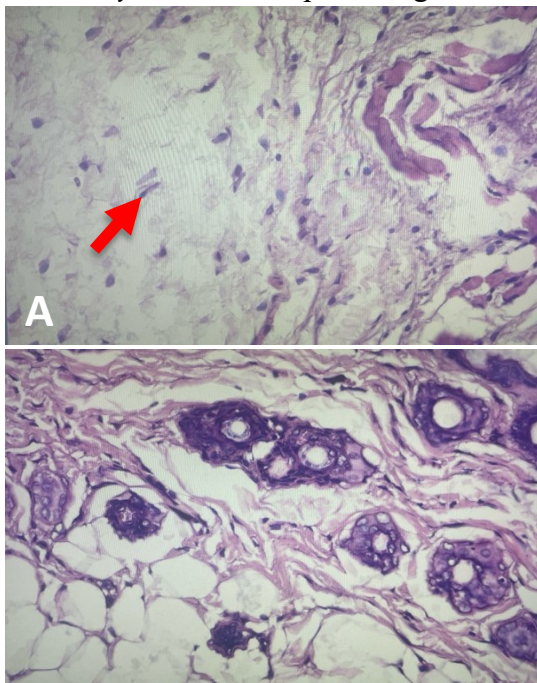
Menggunakan blok parafin yang berasal dari jaringan luka pada mencit dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin*, dilakukan imunohistokimia dengan metode langsung. Antibodi primer yang digunakan adalah FGF-2 (antibodi poliklonal, tikus tikus manusia) dengan pengenceran 1:100. Prosedur kerja pada penelitian ini adalah mengambil preparat dan blok parafin jaringan luka dari hewan percobaan yang memenuhi kriteria inklusi; pencatatan data klinis; preparat diwarnai HE; pemotongan blok parafin secara serial untuk dijadikan preparat yang selanjutnya akan diwarnai dengan pewarnaan FGF-2.

Pewarnaan jaringan dengan *Hematoxylin Eosin*. Pengamatan dilakukan dengan cara mengamati jumlah fibroblas tiap lapang pandang pada preparat histopatologi yang telah dibuat. Sel fibroblas dihitung dengan perbesaran 400 kali menggunakan metode zig-zag. Lapang pandang yang dipilih dimulai dari lapisan papiler kemudian turun ke lapisan retikuler dermis. Dengan interpretasi skor hitung fibroblas 0: negatif; 1: 5-10 sel; 2: 10-50 sel; 3: >50 sel.

Berdasarkan data yang diperoleh kemudian dilakukan uji One Way ANOVA untuk melihat ada tidaknya perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil uji One Way ANOVA data ditemukan perbedaan yang signifikan, selanjutnya data tersebut diuji menggunakan uji perbedaan metode Duncan untuk melihat perbedaan dosis yang paling signifikan.

HASIL

Hasil pemeriksaan mikroskopis fibroblas menggunakan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* tampak sebagai berikut:



Gambar 1. Gambaran histologis pewarnaan jaringan luka menggunakan Hematoxylin Eosin untuk menilai fibroblas yang ditunjukkan oleh panah merah (Gambar A: kelompok I dengan plasebo, Gambar B: kelompok II dengan ekstrak 2,5%, Gambar C: kelompok III dengan ekstrak 5%, Gambar D: kelompok IV dengan ekstrak 7% 0,5% (Pembesaran 400x)

Dengan menggunakan pewarnaan *Hematoxylin* dan *Eosin*, fibroblas diidentifikasi dan diwarnai biru, seperti yang ditunjukkan oleh panah merah. Pewarnaan Hematoxylin dan Eosin adalah metode yang diterima secara luas untuk pemeriksaan histologis jaringan manusia. Teknik pewarnaan ini secara efektif menyoroti struktur seluler dan jaringan. Komponen eosinofilik biasanya mencakup sebagian besar organel seluler dan matriks ekstraseluler, sedangkan komponen basofilik meliputi nukleus, retikulum endoplasma kasar, dan ribosom. Pewarnaan sitoplasma dapat memberikan wawasan

tentang karakteristik sel: basofilik (misalnya, fibroblas), eosinofilik (misalnya, otot polos), dan amfofilik (misalnya, miofibroblast). Mengingat fibroblast memiliki sejumlah besar retikulum endoplasma kasar yang penting untuk sintesis protein, khususnya kolagen, sitoplasma mereka tampak biru setelah pewarnaan Hematoxylin dan Eosin. Temuan dari pemeriksaan fibroblast dirinci dalam Tabel 4.1, yang mengilustrasikan jumlah fibroblast yang diperoleh dari pewarnaan Hematoxylin dan Eosin.

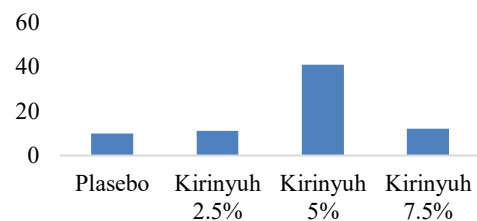
Tabel 1. Jumlah Fibroblast Rata-rata dengan Pewarnaan H&E

Kelompok perlakuan	Jumlah rata-rata fibroblas (sel)
Plasebo	10+5 (5-20) sel
Kirinyuh 2.5%	11+5 (5-18) sel
Kirinyuh 5%	41+17 (25-60) sel
Kirinyuh 7.5%	12+7 (5-20) sel

Berdasarkan Tabel 4.1 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah fibroblas paling banyak terdapat pada Kirinyuh 5% dengan jumlah sel 41+17 (25-60), kemudian Kirinyuh 7,5% dengan jumlah sel 12+7 (5-20), Kirinyuh 2,5% dengan jumlah sel 11+5 (5-18) dan plasebo sebanyak 10+5 (5-20). Peran fibroblas dalam penyembuhan luka dilaporkan oleh Tonnesen *et al.*, di mana tunas kapiler angiogenik menginvasi bekuan luka yang kaya akan fibrin/fibronektin dan dalam beberapa hari membentuk jaringan mikrovaskular di seluruh jaringan granulasi. Ketika kolagen

terakumulasi di jaringan granulasi parut, kepadatan pembuluh darah menurun.

Sebaran Jumlah Hitung Fibroblast antar Kelompok



Gambar 2. Distribusi Jumlah Fibroblas Antar Kelompok

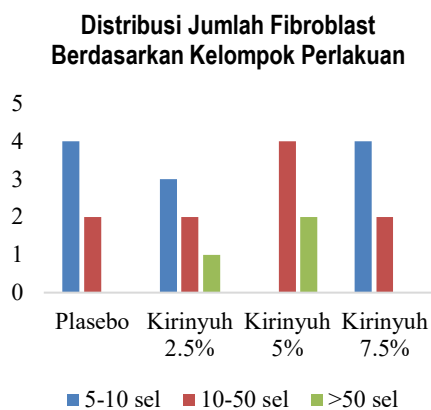
Berdasarkan kategori jumlah fibroblas, karakteristiknya disajikan pada Tabel 4.2 yang menunjukkan distribusi jumlah fibroblas berdasarkan kelompok perlakuan.

Tabel 2. Distribusi Jumlah Fibroblas Berdasarkan Kelompok Perlakuan

Kelompok perlakuan	Jumlah fibroblast			Nilai p
	5-10 sel	10-50 sel	≥50 sel	
Plasebo	4 (66.7%)	2 (33.3%)	0 (0%)	<0.001
Kirinyuh 2.5%	3 (50%)	2 (33.3%)	1 (16.7%)	
Kirinyuh 5%	0 (0%)	4 (66.7%)	2 (33.3%)	
Kirinyuh 7.5%	4 (66.7%)	2 (33.3%)	0 (0%)	
Total	11 (45.8%)	10 (41.7%)	3 (12.5%)	

Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Husni dkk. meneliti efektivitas ekstrak Kirinyuh (*Chromolaena orodata* L) terhadap peningkatan jumlah fibroblas pada mukosa kelinci, dimana Kirinyuh 5% menunjukkan fibroblas sebesar 22%, kemudian Kirinyuh 10% dengan fibroblas

sebesar 26%, Kirinyuh 15% dengan fibroblas sebesar 21%. Kelompok kontrol positif menggunakan betadine menunjukkan fibroblas sebesar 19%. Penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi Kirinyuh tidak mempengaruhi perkembangan sel fibroblas, dimana kemampuan dalam menginduksi perkembangan sel fibroblas lebih baik jika dibandingkan dengan kontrol positif dan negatif.



Gambar 3. Distribusi Jumlah Fibroblas di antara Kelompok

Talbott dkk. menekankan bahwa fibroblas memainkan peran utama dalam penyembuhan luka, berfungsi sebagai komponen seluler utama dalam jaringan ikat. Sel-sel ini berkembang biak dan secara aktif menghasilkan komponen matriks yang penting untuk perbaikan luka dan regenerasi jaringan. Sel-sel ini berperan penting dalam pembentukan jaringan parut dan sintesis kolagen, yang memberikan kekuatan tarik pada jaringan lunak yang sedang dalam proses penyembuhan. Khususnya, jaringan yang meradang menarik fibroblas yang bermigrasi. Selain

itu, evaluasi angiogenesis dalam penelitian ini berkaitan dengan pembentukan pembuluh darah baru, aspek utama penyembuhan dan regenerasi jaringan. Dengan demikian, fibroblas secara inheren berkontribusi secara signifikan terhadap proses penyembuhan luka.

Penelitian ini menemukan bahwa ekstrak etanol dari salep daun *Chromolaena odorata* (L) meningkatkan proliferasi sel fibroblas, yang berpotensi mempercepat penyembuhan luka. Percepatan ini kemungkinan besar disebabkan oleh senyawa kimia dalam ekstrak, yang menunjukkan sifat antiplatelet, antiinflamasi, dan antioksidan. Sanchez dkk. menyoroti Squalene (C₃₀H₅₀) sebagai antioksidan yang memperkuat pertahanan seluler terhadap agen infeksius, sehingga memperkuat produksi sel fibroblas. Selain itu, senyawa ini dapat mengurangi infeksi atau peradangan, yang selanjutnya mendorong proliferasi fibroblas. Senyawa fenolik yang ditemukan dalam *Chromolaena odorata* (L), yaitu (3S)-7-OMethoxymethylvestitol dan asam 9,12,15-Octadecatrienoic, metil ester, memiliki sifat anti-inflamasi.

Peradangan yang berkurang dapat memfasilitasi migrasi sel fibroblas ke lokasi luka. Proses penyembuhan luka meliputi tahap hemostasis, peradangan, proliferasi, dan remodeling. Berbagai faktor dapat memengaruhi urutan fisiologis ini, dan gangguan dapat menyebabkan gangguan penyembuhan luka. Penelitian ini menggarisbawahi peran *Chromolaena odorata* (L) dalam mempercepat pembentukan jaringan atau matriks oleh sel

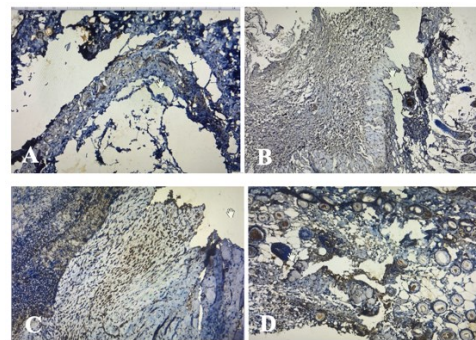
fibroblas. Lebih jauh, *Chromolaena odorata* (L) bertindak sebagai antitrombotik (antiplatelet), mencegah koagulasi dan menjaga fluiditas darah. Secara keseluruhan, *Chromolaena odorata* (L) tampaknya memainkan peran komprehensif dalam penyembuhan luka, dari hemostasis dan pengendalian peradangan hingga regenerasi dan penguatan jaringan.

Dalam sebuah penelitian oleh Emil dkk., peningkatan kolagen tertinggi diamati dengan ekstrak air 7,5% dari daun Kirinyu (*Chromolaena odorata* (L) RMKing & H.Rob.), yang rata-rata mencakup 71% dari luas lapang pandang. Hal ini sedikit berbeda dengan temuan dari penelitian Vijayagrahan, di mana pembentukan kolagen terbanyak terjadi dengan ekstrak air 5% dari daun Kirinyu. Salah satu faktor potensial yang berkontribusi terhadap perbedaan ini adalah hari pengambilan sampel. Dalam penelitian saat ini, sampel dikumpulkan pada hari ke-21, sedangkan dalam penelitian Vijayagrahan, sampel diambil pada hari ke-16. Hari ke-21 dipilih dalam penelitian ini karena menandai akhir fase proliferasi tepat sebelum fase remodeling dimulai. Pada hari ke-21, diameter kolagen telah meningkat, pematangan kolagen telah terjadi, dan sintesis kolagen telah mencapai titik puncak.

Ekspresi FGF-2 dinilai menggunakan skala ordinal, mengidentifikasi butiran kecokelatan yang diwarnai dalam sitoplasma sel tumor menggunakan antibodi FGF-2. Penilaian ini dilakukan secara semi-kuantitatif berdasarkan

intensitas dan persentase sel tumor yang mengekspresikan FGF-2. Kehadiran butiran kromogen dalam sitoplasma sel tumor merupakan indikasi ekspresi FGF-2, dan ini dievaluasi di empat bidang pandang yang berbeda.

Hasil pemeriksaan ekspresi imunohistokimia FGF-2 terlihat sebagai berikut:



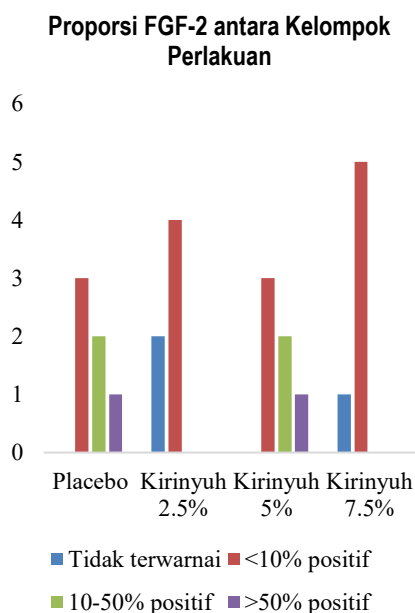
Gambar 4. Tinjauan pemeriksaan imunohistokimia FGF-2 pada jaringan luka menggunakan antibodi FGF-2 untuk menilai ekspresi FGF-2 (Gambar A: kelompok I dengan plasebo, Gambar B: kelompok II dengan ekstrak 2,5%, Gambar C: kelompok III dengan ekstrak 5%, Gambar D: kelompok IV dengan pemberian ekstrak 7,5% (perbesaran 400x)

Tabel 3. Proporsi FGF-2 antar Kelompok Perlakuan

Kelompok perlakuan	Proporsi FGF-2				Nilai p
	Tidak terwarnai	<10% positif	10-50% positif	≥50% positif	
Placebo	0 (0%)	3 (20%)	2 (50%)	1 (50%)	<0.001
Kirinyu 2.5%	2 (66.7%)	4 (26.7%)	0 (0%)	0 (0%)	
Kirinyu 5%	0 (0%)	3 (20%)	2 (50%)	1 (50%)	
Kirinyu 7.5%	1 (33.3%)	5 (33.3%)	0 (0%)	0 (0%)	

	3	15	4	2
Total	(12.5%)	(62.5%)	(16.67%)	(8.34%)

Tabel 3 menunjukkan bahwa proporsi ekspresi FGF-2 terbesar diamati pada kelompok Kirinyuh 5%. Secara khusus, 3 slide menunjukkan pewarnaan positif kurang dari 10%, 2 slide menunjukkan pewarnaan positif 10-50%, dan 1 slide menunjukkan pewarnaan positif lebih dari 50%. Kelompok Kirinyuh 7,5% mengikuti dengan cermat, dengan 5 slide menunjukkan pewarnaan positif kurang dari 10% dan 1 slide tidak menunjukkan pewarnaan positif. Pada kelompok Kirinyuh 2,5%, 4 slide memiliki pewarnaan positif kurang dari 10%, terhitung 26,7%, sementara 2 slide tidak menunjukkan pewarnaan positif apa pun.



Gambar 5 Proporsi FGF-2 antara Kelompok Perawatan

Amfotis *et al.* sebelumnya menunjukkan bahwa fibroblas terutama bertanggung jawab atas sintesis kolagen, menyediakan bahan dasar untuk serat kolagen yang mengikat tepi luka. Migrasi fibroblas ke lokasi cedera dirangsang oleh *transforming growth factor* β (TGF- β). Senyawa saponin memiliki kemampuan untuk meningkatkan proliferasi monosit, yang selanjutnya meningkatkan jumlah makrofag. Makrofag ini melepaskan faktor pertumbuhan, termasuk *platelet-derived growth factor* (PDGF), *fibroblast growth factor* (FGF), *epidermal growth factor* (EGF), dan TGF- β . TGF- β memainkan peran penting dalam memengaruhi proliferasi fibroblas dan pembuluh darah, menarik lebih banyak fibroblas ke lokasi luka untuk sintesis kolagen.

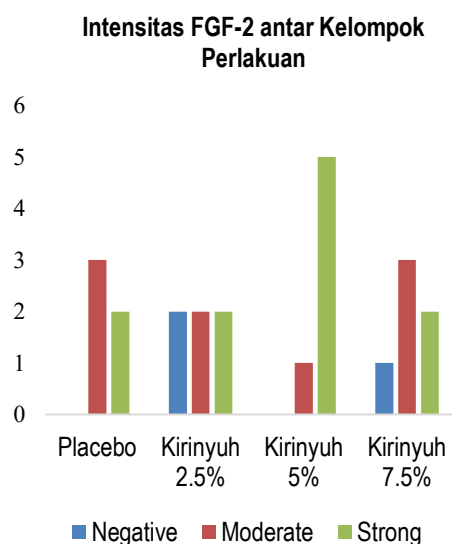
Saponin yang ada dalam ekstrak daun Kirinyuh dapat mengaktifkan jalur pensinyalan TGF- β . Aktivasi TGF- β menghasilkan peningkatan migrasi fibroblas ke area luka, yang mengarah pada peningkatan produksi kolagen. Selain itu, kandungan flavonoid dalam daun Kirinyuh berfungsi untuk meningkatkan sintesis kolagen. Flavonoid mengaktifkan sel T, mendorong diferensiasi dan proliferasinya menjadi sel TH1, TH2, dan TH3. Sel TH3, khususnya, menghasilkan *transforming growth factor*- β (TGF- β), yang selanjutnya merangsang proliferasi fibroblas.

Tabel 4. Intensitas FGF-2 antar Kelompok Perlakuan

Kelompok perlakuan	Intensitas FGF-2			P value
	Negatif	Sedang	Positif	
Plasebo	0 (0%)	3 (20%)	2 (25%)	<0.001

Kirinyuh 2.5%	2 (66.7%)	2 (22.7%)	2 (16.7%)
Kirinyuh 5%	0 (0%)	1 (11.1%)	5 (41.7%)
Kirinyuh 7.5%	1 (33.3%)	3 (33.3%)	2 (16.7%)
Total	3 (12.5%)	9 (37.5%)	12 (50%)

Untuk mengevaluasi intensitas ekspresi FGF-2, skor H berfungsi sebagai sistem penilaian yang memeriksa persentase sel tumor yang diwarnai. Sistem ini mengategorikan pewarnaan menjadi empat tingkat: tidak ada pewarnaan (0), pewarnaan lemah (+1), pewarnaan sedang (+2), dan pewarnaan kuat (+3). Skor H dihitung menggunakan rumus: (3xpersentase inti yang diwarnai kuat) + (2xpersentase inti yang diwarnai sedang) + (1xpersentase inti yang diwarnai lemah) (3xpersentase inti yang diwarnai kuat) + (2xpersentase inti yang diwarnai sedang) + (1xpersentase inti yang diwarnai lemah). Temuan dari penelitian ini dirinci dalam Tabel 4.



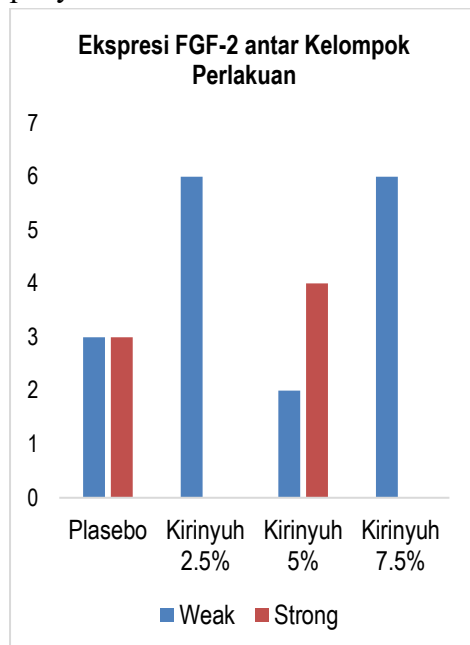
Gambar 6. Intensitas FGF-2 antar Kelompok Perlakuan

Tabel 5. Ekspresi FGF-2 antar Kelompok Perlakuan

Perlakuan	Ekspresi FGF-2		Nilai P
	Lemah	Sedang	
Plasebo	3 (17.6%)	3 (42.9%)	0.005
Kirinyuh 2.5%	6 (35.3%)	0 (0%)	
Kirinyuh 5%	2 (11.8%)	4 (57.1%)	
Kirinyuh 7.5%	6 (35.3%)	0 (0%)	
Total	17 (70.8%)	7 (29.2%)	

Dalam hal ekspresi FGF-2 di seluruh kelompok perlakuan, kelompok Kirinyuh 5% menunjukkan ekspresi FGF-2 paling kuat dibandingkan dengan kelompok lain. Secara khusus, 4 slide (57,1%) menunjukkan ekspresi kuat, sementara 2 slide (11,8%) termasuk dalam kategori ekspresi FGF lemah, dengan nilai p 0,005 ($p < 0,05$). Fibroblas memainkan peran penting dalam mendukung proses penyembuhan normal. Mereka terlibat dalam memecah bekuan fibrin, menghasilkan matriks ekstraseluler (ECM) baru, dan mensintesis struktur kolagen untuk memfasilitasi penyembuhan luka yang efektif. Selain itu, fibroblas berkontribusi pada kontraksi luka. *fibroblast growth factor* (FGF) 2 memiliki potensi untuk mempercepat penutupan luka dengan mengaktifkan sel endotel vaskular dan fibroblas. Selain mendorong pertumbuhan pembuluh darah, FGF, termasuk FGF-1 dan FGF-2, sangat penting dalam penyembuhan luka. Mereka merangsang angiogenesis dan proliferasi

fibroblas, yang mengarah pada pembentukan jaringan granulasi yang mengisi rongga luka pada awal proses penyembuhan.¹⁶



Gambar 7. Ekspresi FGF-2 antar kelompok perlakuan

DISKUSI

Penelitian sebelumnya telah menyoroti efek *Chromolaena odorata* (L) pada area luka tempat terjadinya angiogenesis. Penelitian ini menunjukkan bahwa *Chromolaena odorata* (L) memiliki dampak yang menguntungkan dengan meningkatkan produksi oksida nitrat, mendorong pelepasan VEGF (Faktor Pertumbuhan Endotel Vaskular), dan mengaktifkan jalur pensinyalan aktin. Lebih jauh, temuan penelitian menunjukkan bahwa *Chromolaena odorata* (L) dapat meningkatkan mobilisasi sel progenitor endotel, yang merupakan jenis sel fibroblas, sehingga mempercepat reendotelisasi setelah cedera vaskular.

Selain itu, *Chromolaena odorata* (L) dapat merangsang angiogenesis dengan memicu pelepasan enzim protease dari sel endotel yang diaktifkan.^{7,8}

Pembentukan pembuluh darah vaskular melibatkan degradasi matriks ekstraseluler, migrasi, dan proliferasi sel endotel, serta produksi matriks ekstraseluler baru.^{9,10} Ini diikuti oleh pematangan atau stabilisasi pembuluh darah yang terkontrol dan termulasi untuk memenuhi kebutuhan jaringan. *Chromolaena odorata* (L) memanfaatkan proses ini untuk mempercepat penyembuhan luka, meningkatkan deposisi kolagen, meningkatkan jumlah fibroblas, dan meningkatkan kepadatan pembuluh darah.^{9,10} Lebih jauh lagi, zat kimia atau senyawa yang berasal dari *Chromolaena odorata* (L) telah diidentifikasi sebagai agen proangiogenik yang memfasilitasi penyembuhan dan perbaikan luka dengan mengatur TGF- β .^{9,10}

Secara teoritis, angiogenesis berlebihan terjadi ketika sel-sel abnormal menghasilkan faktor angiogenik tingkat tinggi yang melawan efek penghambat angiogenesis.¹¹ Sebaliknya, produksi faktor angiogenik yang rendah dapat menghambat regenerasi sel pembuluh darah, yang menyebabkan kondisi seperti aterosklerosis, stroke, infertilitas, dispepsia, dan penyembuhan luka yang tertunda.¹¹ Kelainan tersebut dapat mengakibatkan nekrosis jaringan.¹¹ Selain itu, angiogenesis diketahui membentuk pembuluh darah baru dari yang sudah ada melalui perluasan atau perombakan pembuluh darah yang sudah ada

sebelumnya.¹¹ Mekanisme pembentukan pembuluh darah melalui angiogenesis dimulai dengan pembelahan sel, yang difasilitasi oleh zat-zat angiogenik. Zat-zat ini kemudian bergerak ke pembuluh darah di dekatnya dan mengaktifkan reseptor sel endotelnya.¹²

Sel-sel fibroblas dapat berkontribusi pada peningkatan angiogenesis selama penyembuhan luka sayatan pada mukosa hidung kelinci.¹³ Temuan ini menunjukkan bahwa fibroblas mengeluarkan faktor-faktor di luar VEGF yang menginduksi fenotipe angiogenik pada sel-sel endotel.¹⁴ Baik fibroblas maupun media yang dikondisikan oleh fibroblas (CM) mendukung pertumbuhan sel endotel dan pembentukan lumen.^{13,14} Faktor Pertumbuhan Endotel Vaskular (VEGF) mendorong angiogenesis melalui berbagai mekanisme.^{13,14} Mekanisme ini meliputi peningkatan proliferasi dan kelangsungan hidup sel endotel, peningkatan migrasi dan invasi sel, peningkatan permeabilitas pembuluh darah yang ada untuk membentuk jaringan kisi bagi migrasi sel endotel, dan peningkatan kemotaksis dan homing.^{13,14} Hasil penelitian menunjukkan peningkatan umum sebesar 69% pada sel fibroblas, dengan angiogenesis mencapai 60%.^{13,14} Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas sel fibroblas memainkan peran penting dalam perkembangan angiogenesis.^{13,14} Penelitian sebelumnya telah mencatat bahwa kontribusi spesifik fibroblas terhadap angiogenesis sebagian besar masih belum dieksplorasi.^{13,14} Namun, turunan fibroblas dapat bertindak sebagai agen angiogenik, memengaruhi sel

endotel dan meningkatkan kekakuan matriks.^{13,14}

Tonnesen dkk. melaporkan peran fibroblas dalam penyembuhan luka, dengan mencatat bahwa tunas kapiler angiogenik menyerang bekuan luka, yang kaya akan fibrin dan fibronectin.^{13,14} Dalam beberapa hari, tunas ini membentuk jaringan mikrovaskular di seluruh jaringan granulasi.¹⁵ Saat kolagen terakumulasi dalam jaringan granulasi parut, kepadatan pembuluh darah menurun.¹⁵ Angiogenesis sangat penting untuk penyembuhan luka karena memfasilitasi pembentukan sel imun, pembuangan limbah, dan penyediaan nutrisi untuk regenerasi jaringan.¹⁶ Disregulasi dalam pengendalian pertumbuhan pembuluh darah dapat menyebabkan komplikasi seperti *dehiscence* dan ulserasi.^{15,16} Selain itu, angiogenesis memainkan peran penting dalam perkembangan berbagai penyakit. Ketidakseimbangan antara faktor pro-angiogenik dan anti-angiogenik dapat menyebabkan angiogenesis yang berlebihan atau tidak mencukupi.¹⁶

Ekstrak *Chromolaena odorata* (L) yang digunakan dalam penelitian ini cenderung pro-angiogenik karena diperlukan untuk penyembuhan luka. Beberapa senyawa aktif yang terkandung di dalamnya diyakini bekerja berdasarkan sifat farmakodinamik dan farmakokinetik, yang perannya tidak hanya meningkatkan bioavailabilitas, tetapi juga meningkatkan kelarutan dan laju penyerapan tanpa mengubah efek biologis sekaligus memberikan respons penyembuhan. Secara umum, beberapa senyawa alami dalam

ekstrak tanaman atau herbal memiliki efek modulasi angiogenesis.^{16,17} Sebagian besar senyawa yang berasal dari tanaman ini adalah fitokimia yang memiliki efek fisiologis yang signifikan terhadap tubuh. Molekul-molekul ini bertindak sebagai antioksidan, merangsang aktivitas enzim, meningkatkan aksi hormon, mengganggu replikasi DNA, atau mengikat protein dinding sel.¹⁷

Beberapa laporan penelitian juga menggambarkan efek sinergis senyawa tanaman sebagai agen anti-angiogenik atau proangiogenik.^{16,17} Polifenol dalam *Chromolaena odorata* (L) memiliki efek proliferasi untuk meningkatkan penyembuhan luka.^{16,17} Selain itu, flavonoid, termasuk flavon, flavonol, flavanon, antosianin, dan isoflavon, yang termasuk dalam kelompok polifenol lainnya, juga berperan pro-angiogenik dan berperan dalam penyembuhan luka.^{16,17} Sejumlah kelompok senyawa dalam tanaman *Chromolaena odorata* (L) meningkatkan kapiler angiogenik untuk invasi bekuan luka yang kaya akan fibrin/fibronektin untuk membentuk jaringan granulasi. Sifat fitorespons dari *Chromolaena odorata* (L) dapat meningkatkan akumulasi kolagen dalam jaringan granulasi pada bekas luka dan mengurangi kepadatan pembuluh darah.^{16,17}

KESIMPULAN

Penelitian ini menemukan bahwa ekstrak air daun kirinyu (*Chromolaena odorata*) memiliki pengaruh terhadap ekspresi FGF-2 pada akhir fase 2

penyembuhan luka pada tikus (*Mus musculus*), terbukti dari intensitas, persentase, dan ekspresi FGF-2 yang signifikan. Pada penelitian ini, konsentrasi ekstrak air daun kirinyu (*Chromolaena odorata*) 5% merupakan konsentrasi yang paling efektif dalam ekspresi FGF-2 pada akhir fase 2 penyembuhan luka pada tikus (*Mus musculus*).

DAFTAR PUSTAKA

1. Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, Gurtner GC. Wound Healing: A Cellular Perspective. *Physiol Rev* [Internet]. 2019;99:665–706. Available from: www.prv.org
2. Gonzalez ACDO, Andrade ZDA, Costa TF, Medrado ARAP. Wound healing - A literature review. Vol. 91, *Anais Brasileiros de Dermatologia*. Sociedade Brasileira de Dermatologia; 2016. p. 614–20.
3. Gushiken LFS, Beserra FP, Bastos JK, Jackson CJ, Pellizzon CH. Cutaneous wound healing: An update from physiopathology to current therapies. Vol. 11, *Life*. MDPI AG; 2021.
4. Wilkinson HN, Hardman MJ. Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes: *Cellular Mechanisms of Wound Repair*. Vol. 10, Open Biology. Royal Society Publishing; 2020.
5. Farooq M, Khan AW, Kim MS, Choi S. The role of fibroblast growth factor

- (FGF) signaling in tissue repair and regeneration. Vol. 10, Cells. MDPI; 2021.
6. Harfiani E, Nugraha Y, Aprilia CA, Makkiyah FA, Puspita R, Kharisma VD, et al. The phytochemical and pharmacological activity of extract Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) leaves: A Review. *Pharmacognosy Journal*. 2022 Sep 1;14(5):580–6.
 7. Wulandari ER, Handajani J, Rosanto YB. Effectiveness of Kirinyuh (*Chromolaena Odorata*) Extract on Increasing of Collagen Fibers after Tooth Extraction [Internet]. Vol. 13, *Journal of International Dental and Medical Research*. 2020. Available from: <http://www.jidmr.com>
 8. Kolarsick PA, Ann Kolarsick M, Goodwin C, Chapter F. *Anatomy and Physiology of the Skin*. 2006.
 9. WPL Fan, Rashid M, Enoch S. Current advances in modern wound healing. Vol. 6, *Clinical REVIEW Wounds uk*. 2010.
 10. Hofmann E, Fink J, Pignet AL, Schwarz A, Schellnegger M, Nischwitz SP, et al. Human In Vitro Skin Models for Wound Healing and Wound Healing Disorders. Vol. 11, *Biomedicine*. MDPI; 2023.
 11. Gonzalez ACDO, Andrade ZDA, Costa TF, Medrado ARAP. Wound healing - A literature review. Vol. 91, *Anais Brasileiros de Dermalogia*. Sociedade Brasileira de Dermalogia; 2016. p. 614–20.
 12. Prasetyono TOH. General concept of wound healing, revisited. *Indonesian Medical Journal*. 2009;208–2016.
 13. Potekaev NN, Borzykh OB, Medvedev G V., Pushkin D V., Petrova MM, Petrov A V., et al. The role of extracellular matrix in skin wound healing. *J Clin Med*. 2021 Dec 1;10(24).
 14. Benington L, Rajan G, Locher C, Lim LY. Fibroblast growth factor 2—A review of stabilization approaches for clinical applications. Vol. 12, *Pharmaceutics*. MDPI AG; 2020. p. 1–14.
 15. Navarro-Requena C, Pérez-Amodio S, Castaño O, Engel E. Wound Healing-Promoting Effects Stimulated by Extracellular Calcium and Calcium-Releasing Nanoparticles on Dermal Fibroblasts. 2018.
 16. Farooq M, Khan AW, Kim MS, Choi S. The role of fibroblast growth factor (FGF) signaling in tissue repair and regeneration. Vol. 10, Cells. MDPI; 2021.
 17. Farooq M, Khan AW, Kim MS, Choi S. The role of fibroblast growth factor (FGF) signaling in tissue repair and regeneration. Vol. 10, Cells. MDPI; 2021.

