

EFFECTIVENESS OF COMBINED VIRGIN COCONUT OIL (VCO) AND *NIGELLA SATIVA* IN REGULATING INFLAMMATORY AND TISSUE REMODELING PROCESSES DURING DIABETIC ULCER WOUND HEALING IN RAT

EFEKTIVITAS KOMBINASI *VIRGIN COCONUT OIL* (VCO) DAN *NIGELLA SATIVA* DALAM REGULASI PROSES INFLAMASI DAN REMODELING JARINGAN PADA PENYEMBUHAN LUKA ULKUS DIABETIKUM PADA TIKUS

ELIZA ARMAN^{1*}, RAHMI NOVITA YUSUF¹

¹Department of Biomedical Science, Universitas Syedza Saintika, Padang, Indonesia

*Corresponding author email: elizaarman.ea@gmail.com

ABSTRAK

Ulkus diabetikum merupakan salah satu komplikasi serius diabetes melitus yang ditandai dengan proses penyembuhan luka yang lambat akibat inflamasi berkepanjangan dan gangguan regenerasi jaringan. Penatalaksanaan luka secara konvensional sering kali belum mampu mencegah terjadinya komplikasi berat seperti infeksi dan amputasi, sehingga diperlukan alternatif terapi yang lebih efektif. Bahan alami seperti Virgin Coconut Oil (VCO) dan minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) mulai banyak diteliti karena memiliki aktivitas antiinflamasi, antioksidan, serta kemampuan mendukung regenerasi jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh kombinasi VCO dan minyak jintan hitam terhadap ekspresi gen TNF- α dan MMP-2 selama proses penyembuhan luka pada model tikus ulkus diabetikum. Penelitian eksperimental ini menggunakan 30 ekor tikus jantan galur Wistar yang diinduksi diabetes melalui injeksi streptozotocin intraperitoneal. Luka eksisi penuh berdiameter 10 mm dibuat pada bagian punggung tikus menggunakan punch biopsy. Tikus dibagi secara acak menjadi enam kelompok, yaitu kontrol diabetes, VCO, minyak jintan hitam, serta tiga kelompok kombinasi (K1: 50% VCO–50% minyak jintan hitam; K2: 70% VCO–30% minyak jintan hitam; K3: 30% VCO–70% minyak jintan hitam). Perlakuan diberikan secara topikal selama 7 dan 14 hari. Kadar gula darah puasa dipantau setiap minggu. Jaringan luka diambil untuk analisis ekspresi gen TNF- α dan MMP-2 menggunakan RT-PCR serta pemeriksaan histopatologi. Hasil penelitian menunjukkan penurunan signifikan ekspresi gen TNF- α pada seluruh kelompok kombinasi, dengan penurunan terbesar pada kelompok K3 baik pada hari ke-7 (rerata 0,111) maupun hari ke-14 (rerata 0,108). Sebaliknya, ekspresi gen MMP-2 tidak menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok pada kedua waktu pengamatan. Temuan histopatologi juga mendukung hasil ini dengan menunjukkan perbaikan epitelisasi dan organisasi jaringan yang lebih baik pada kelompok kombinasi. Kesimpulannya, kombinasi VCO dan minyak jintan hitam secara sinergis mampu mempercepat penyembuhan luka diabetik terutama melalui modulasi jalur inflamasi dengan penekanan TNF- α , bukan melalui mekanisme remodeling matriks ekstraseluler yang dimediasi oleh MMP-2. Temuan ini menunjukkan potensi terapi topikal berbasis bahan alami dalam penatalaksanaan ulkus diabetikum.

Kata kunci: Ulkus diabetikum; Virgin Coconut Oil (VCO); *Nigella sativa*; TNF- α ; MMP-2

ABSTRACT

Diabetic ulcers are one of the serious complications of diabetes mellitus characterized by delayed wound healing due to prolonged inflammation and impaired tissue regeneration. Conventional wound management often fails to prevent severe complications such as infection and amputation, highlighting the need for more effective alternative therapies. Natural substances such as Virgin Coconut Oil (VCO) and black cumin oil (*Nigella sativa*) have attracted increasing research interest due to their anti-

inflammatory, antioxidant, and tissue-regenerative properties. This study aimed to evaluate the effect of the combination of VCO and black cumin oil on TNF- α and MMP-2 gene expression during the wound healing process in a diabetic ulcer rat model. This experimental study involved 30 male Wistar rats induced with diabetes mellitus through intraperitoneal streptozotocin injection. A full-thickness excisional wound with a diameter of 10 mm was created on the dorsal area using a punch biopsy. The rats were randomly divided into six groups: diabetic control, VCO, black cumin oil, and three combination groups (K1: 50% VCO–50% black cumin oil; K2: 70% VCO–30% black cumin oil; K3: 30% VCO–70% black cumin oil). Treatments were applied topically for 7 and 14 days. Fasting blood glucose levels were monitored weekly. Wound tissues were collected for TNF- α and MMP-2 gene expression analysis using RT-PCR, as well as histopathological examination. The results showed a significant reduction in TNF- α gene expression in all combination groups, with the greatest decrease observed in group K3 on both day 7 (mean 0.111) and day 14 (mean 0.108). In contrast, MMP-2 gene expression did not show significant differences among groups at either observation time. Histopathological findings supported these results, showing improved epithelialization and better tissue organization in the combination groups. In conclusion, the synergistic combination of VCO and black cumin oil effectively accelerates diabetic wound healing primarily through modulation of inflammatory pathways by suppressing TNF- α rather than through extracellular matrix remodeling mediated by MMP-2. These findings suggest the potential of natural-based topical therapy in the management of diabetic ulcers.

Keywords: Diabetic ulcer; Virgin Coconut Oil (VCO); *Nigella sativa*; TNF- α ; MMP-2.

PENDAHULUAN

Diabetes melitus merupakan penyakit metabolik kronis dengan angka kejadian yang terus meningkat secara global setiap tahunnya. Kondisi hiperglikemia persisten yang dialami penderita diabetes tidak hanya berdampak pada gangguan metabolisme glukosa, tetapi juga menyebabkan disfungsi pada berbagai mekanisme biologis tubuh, termasuk proses perbaikan dan regenerasi jaringan. Salah satu komplikasi yang paling sering terjadi dan menjadi tantangan besar dalam praktik klinis adalah ulkus diabetikum (Armstrong *et al.*, 2023). Luka pada penderita diabetes memiliki karakteristik khas berupa proses penyembuhan yang sangat lambat, disertai risiko tinggi terjadinya infeksi sekunder, nekrosis jaringan, hingga amputasi ekstremitas bawah (Jeffcoate *et al.*, 2018). Diperkirakan sekitar 25% penderita diabetes mengalami gangguan penyembuhan luka yang signifikan, yang pada akhirnya berdampak besar terhadap kualitas hidup pasien serta menimbulkan beban ekonomi dan psikososial yang berat bagi keluarga maupun sistem pelayanan kesehatan (Piran *et al.*, 2024).

Penatalaksanaan luka diabetik, seperti debridemen jaringan nekrotik secara berkala, pengendalian infeksi, serta penggunaan balutan luka modern (Xie *et al.*, 2025). Namun demikian, angka amputasi pada pasien ulkus diabetikum masih berada pada kisaran 14–20%. Hal ini menunjukkan bahwa pendekatan terapi yang ada saat ini belum sepenuhnya mampu mengatasi kompleksitas patofisiologi penyembuhan luka pada kondisi diabetes (Zhang *et al.*, 2024). Keterlambatan penyembuhan luka pada diabetes sangat berkaitan dengan inflamasi yang berkepanjangan, gangguan angiogenesis, disfungsi fibroblas, serta ketidakseimbangan proses remodeling matriks ekstraseluler (Armstrong *et al.*, 2023). Oleh karena itu, diperlukan strategi terapi inovatif yang tidak hanya bersifat simptomatik, tetapi juga bekerja langsung pada mekanisme molekuler yang mendasari gangguan penyembuhan luka tersebut. Secara fisiologis, penyembuhan luka berlangsung melalui tiga fase utama, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling. Pada luka diabetik, fase inflamasi cenderung berlangsung lebih lama akibat peningkatan

sitokin proinflamasi yang persisten, sehingga menghambat transisi menuju fase proliferasi. Dalam konteks ini, terapi yang mampu mengendalikan inflamasi sekaligus merangsang regenerasi jaringan menjadi sangat penting (Burgess *et al.*, 2021).

Pada tahap awal penyembuhan luka, fase inflamasi ditandai dengan kerusakan vaskular dan degradasi matriks ekstraseluler yang memicu aktivasi trombosit serta pelepasan berbagai mediator biologis. Salah satu mediator utama yang berperan dalam fase ini adalah tumor necrosis factor- α (TNF- α), sitokin proinflamasi yang mengatur rekrutmen sel imun, komunikasi antar sel, serta proses remodeling jaringan. Namun, pada kondisi diabetes, produksi TNF- α sering kali berlebihan dan berlangsung dalam waktu lama, sehingga inflamasi menjadi persisten dan menghambat penutupan luka. Kondisi ini menyebabkan proses penyembuhan terhenti pada fase inflamasi tanpa dapat berlanjut optimal ke fase proliferasi (Chiu *et al.*, 2025).

Bahan alami yang mulai banyak diteliti karena potensinya dalam penyembuhan luka adalah Virgin Coconut Oil (VCO). VCO kaya akan asam lemak rantai sedang, terutama asam laurat dan asam kaprat, yang memiliki kemampuan penetrasi kulit yang baik (Dayrit, F. M., 2015). Kandungan ini diketahui mampu merangsang aktivitas fibroblas, meningkatkan pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis), mempercepat migrasi sel, serta mendukung proses re-epitelisasi (Nevin *et al.*, 2010). Selain itu, VCO juga dilaporkan mampu meningkatkan deposisi kolagen dan menstimulasi ekspresi protein yang terlibat dalam penyembuhan luka seperti PDGF-BB, TGF- β , dan MMP-9 (Meliala *et al.*, 2019). Di sisi lain, minyak jintan hitam (MJH) juga memiliki potensi terapeutik yang sangat luas dalam bidang penyembuhan luka. Kandungan bioaktif utamanya, yaitu thymoquinone, diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi, antioksidan, antibakteri, dan protektif terhadap jaringan (Ahmad., 2013). Kombinasi kedua bahan alami ini menjadi sangat menarik karena keduanya bekerja melalui mekanisme yang

saling melengkapi, yaitu pengendalian inflamasi dan stimulasi regenerasi jaringan.

Berdasarkan mekanisme tersebut, penggunaan kombinasi VCO dan minyak jintan hitam secara topikal dapat di jadikan sebagai pendekatan terapi yang rasional dan berbasis mekanisme biologis. VCO berperan dalam memperbaiki integritas jaringan melalui stimulasi fibroblas dan pembentukan kolagen, sementara minyak jintan hitam bekerja kuat dalam mengendalikan inflamasi melalui aktivitas thymoquinone. Sinergisme kedua bahan ini diharapkan mampu menciptakan keseimbangan antara kontrol inflamasi dan stimulasi regenerasi jaringan, sehingga proses penyembuhan luka pada penderita diabetes dapat berlangsung lebih cepat, lebih efektif, dan lebih terarah. Pendekatan berbasis bahan alami ini juga memberikan keuntungan tambahan berupa keamanan penggunaan jangka panjang, ketersediaan bahan yang mudah, serta potensi efek samping yang lebih minimal dibandingkan terapi sintesis. Dengan demikian, eksplorasi ilmiah terhadap kombinasi VCO dan minyak jintan hitam dalam konteks penyembuhan luka diabetik menjadi sangat relevan untuk dikembangkan sebagai terapi alternatif berbasis bukti ilmiah yang kuat dan mekanisme kerja yang jelas.

METODE

Desain Penelitian

Tikus percobaan dinyatakan mengalami diabetes apabila kadar gula darah puasa (GDP) melebihi 250 mg/dL pada hari ketiga setelah pemberian streptozotocin (STZ). Hewan yang telah terkonfirmasi diabetes kemudian dibagi secara acak ke dalam enam kelompok perlakuan, masing-masing terdiri dari lima ekor tikus. Virgin Coconut Oil (VCO), minyak jintan hitam, dan kombinasi keduanya diberikan secara topikal pada area luka dengan Volume 1 mL selama 7 atau 14 hari berturut-turut.

Pembagian kelompok secara terperinci dapat dilihat pada dibawah ini:

Kelompok 1: Kontrol diabetes (DC) tanpa perlakuan.

Kelompok 2: Pemberian 100% Virgin Coconut Oil (VCO).

Kelompok 3: Pemberian 100% minyak jintan hitam (*Nigella sativa*).

Kelompok 4 (K1): Kombinasi 50% VCO dan 50% minyak jintan hitam.

Kelompok 5 (K2): Kombinasi 70% VCO dan 30% minyak jintan hitam.

Kelompok 6 (K3): Kombinasi 30% VCO dan 70% minyak jintan hitam

Persiapan Tikus Ulkus Diabetikum dan Pengambilan Jaringan Luka

Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus jantan galur Wistar dengan berat badan 220–250 gram. Hewan dipelihara pada kondisi lingkungan terkontrol dengan suhu $23 \pm 2^\circ\text{C}$, siklus terang-gelap 12 jam, serta diberi akses makanan dan minuman secara *ad libitum*. Induksi diabetes dilakukan melalui injeksi intraperitoneal STZ dengan dosis 55 mg/kg berat badan. Setelah induksi, tikus dipantau selama satu minggu dan dilakukan pemeriksaan kadar gula darah puasa serta gula darah sewaktu dari vena ekor setiap minggu selama empat minggu untuk memastikan status diabetes (Seedevi *et al.*, 2020). Tikus yang telah terkonfirmasi diabetes kemudian dianestesi menggunakan xylazine dan bulu punggung dicukur. Luka eksisi penuh dengan diameter 10 mm dibuat menggunakan alat punch biopsy. Setiap tikus ditempatkan dalam kandang terpisah. Jaringan kulit luka diambil pada hari ke-7 dan ke-14 setelah pembuatan luka. Saat pengambilan sampel, tikus diposisikan miring ke kanan, kemudian dilakukan eksisi kulit hingga mencapai lapisan subkutan. Lapisan epidermis dipisahkan secara hati-hati menggunakan pinset dan gunting. Setelah pengambilan jaringan, tikus dimatikan secara humanis melalui dislokasi servikal (Keshen *et al.*, 2021).

Analisis Ekspresi Gen

Ekstraksi RNA dan Sintesis cDNA

Sampel jaringan dari seluruh kelompok diekstraksi RNA-nya menggunakan reagen TRIzol® (Thermo Fisher Scientific, CA, USA). Setiap sampel dihomogenisasi dalam 1 mL TRIzol® menggunakan homogenizer.

Sebanyak 200 μL kloroform ditambahkan, diinkubasi pada suhu ruang, kemudian disentrifugasi pada 12.000g pada suhu 4°C selama 15 menit untuk pemisahan fase. Fase atas (aqueous phase) dipindahkan dan dicampur dengan dua kali volume isopropanol, diinkubasi selama 10 menit, lalu disentrifugasi kembali untuk membentuk pelet RNA berwarna putih. Pelet dicuci menggunakan 350 μL etanol 70%, divortex, dan disentrifugasi pada 7.500g selama 5 menit pada 4°C . Setelah supernatan dibuang, pelet dikeringkan selama ± 10 menit, kemudian dilarutkan dalam 25–40 μL air bebas RNase. Konsentrasi RNA diukur dan distandarisasi menjadi 1000ng. Sintesis cDNA dilakukan menggunakan kit sintesis cDNA komersial (Thermo Fisher Scientific, Vilnius, Lithuania). Campuran reaksi terdiri dari 5 μg RNA total, 1xRT buffer, 20 pmol oligo(dT), 4 mM dNTP, 10 mM DTT, 40 U enzim SuperScript™ II reverse transcriptase, dan air bebas nuklease hingga volume akhir 20 μL . Proses transkripsi balik dilakukan pada suhu 52°C selama 50 menit sesuai protokol kit (Kil *et al.*, 2016).

Amplifikasi PCR Gradien

Proses PCR dilakukan selama 40 siklus amplifikasi dengan tahapan: predenaturasi 95°C selama 3 menit, denaturasi awal 94°C selama 5 menit, siklus inti terdiri dari 94°C selama 45 detik, 55°C selama 30 detik, 72°C selama 45 detik, dan ekstensi akhir pada 72°C selama 7 menit (Kil *et al.*, 2016)

Realtime PCR (RT-PCR)

RT-PCR dilakukan menggunakan primer spesifik gen yang telah dirancang dan dioptimasi suhu annealing-nya. Urutan primer gen TNF- α dan MMP-2 adalah sebagai berikut:

TNF- α

5'-TGTGCCGCCGCTGTCTGCTTCACGCT-3'

5'-GATGAGGAAAGACACCTGGCTGTAGA-3'

MMP-2

5'-CTCAGATCCGTGGTGAGATCT-3'

5'-CTTTGGTTCTCCAGCTTCAGG-3'

Pengukuran Konsentrasi Gen

Pengukuran konsentrasi gen menggunakan metode kuantifikasi relatif:

ΔCT eksperimen = CT target eksperimen – CT

housekeeping eksperimen

ΔCT kontrol = CT target kontrol – CT

housekeeping kontrol

$\Delta\Delta CT = \Delta CT$ eksperimen – ΔCT kontrol

Perbandingan ekspresi gen dihitung dengan rumus: $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Livak *et al.*, 2001).

Analisis Histologi Jaringan Kulit

Jaringan difiksasi menggunakan formalin buffer fosfat 4%, kemudian diproses menjadi blok parafin dan dipotong setebal 4 μm menggunakan mikrotom. Preparat diwarnai dengan Hematoksin-Eosin. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya CX33, dan dokumentasi gambar menggunakan kamera Sony Exmor CMOS 3.1 MP yang dianalisis dengan perangkat lunak Betaview. Pengukuran ketebalan epidermis dan dermis dilakukan pada perbesaran 40 \times di sepuluh titik berbeda. Ketebalan epidermis diukur dari lapisan basal hingga batas atas stratum granulosum, sedangkan ketebalan dermis diukur dari basal epidermis hingga batas bawah dermis. Hasil dinyatakan dalam rerata mikrometer (μm). Parameter histopatologi lain seperti edema, infiltrasi leukosit, jaringan granulasi, keberadaan fibroblas, deposisi kolagen, dan re-epitelisasi dinilai secara semi-kuantitatif berdasarkan kriteria McMinn (Hasan *et al.*, 2020).

Analisis Data

Data dianalisis menggunakan SPSS versi 21.0 dengan uji One-Way ANOVA dan uji lanjut Tukey. Data disajikan dalam bentuk rerata \pm standar deviasi dengan tingkat kepercayaan 95%. Nilai $p < 0,05$ dianggap bermakna secara statistik.

HASIL

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh pemberian VCO, minyak jintan hitam, serta kombinasi keduanya (K1, K2, dan K3) terhadap proses penyembuhan luka pada model tikus ulkus diabetikum. Ekspresi gen TNF- α dan MMP-2 dianalisis menggunakan metode RT-PCR dengan GAPDH sebagai housekeeping gene dan dihitung menggunakan metode Livak.

Tabel 1. Rerata nilai ekspresi gen TNF alfa setelah pemberian VCO dan minyak jintan hitam dan kombinasi hari ke-7 pada model tikus diabetes.

No.	Grup	n	rerata \pm SD	p- value
1	Kontrol	5	1.020 \pm 0.22	0,000
2	VCO	5	0,760 \pm 0.19	
3	MJH	5	0.791 \pm 0.24	
4	K 1	5	0,502 \pm 0,18	
5	K 2	5	0,279 \pm 0.09	
6	K 3	5	0,111 \pm 0.031	

Berdasarkan Tabel 1 hasil pengukuran, rerata nilai parameter yang diamati menunjukkan perbedaan yang nyata antar kelompok perlakuan. Kelompok kontrol memiliki rerata tertinggi yaitu 1,020 \pm 0,22, yang menggambarkan kondisi inflamasi dan kerusakan jaringan yang masih dominan tanpa adanya intervensi. Pemberian VCO menurunkan rerata menjadi 0,760 \pm 0,19, sedangkan pemberian minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) menghasilkan rerata 0,791 \pm 0,24. Kedua kelompok ini menunjukkan adanya penurunan dibandingkan kontrol, yang mengindikasikan efek antiinflamasi dan perbaikan jaringan dari masing-masing bahan alami tersebut. Penurunan yang lebih signifikan terlihat pada kelompok kombinasi perlakuan. Pada kelompok K1 rerata turun menjadi 0,502 \pm 0,18, kemudian semakin menurun pada K2 dengan rerata 0,279 \pm 0,09, dan mencapai nilai terendah pada K3 yaitu 0,111 \pm 0,031. Pola ini menunjukkan adanya efek dosis/tingkatan kombinasi yang semakin efektif dalam menekan proses inflamasi dan mendukung remodeling jaringan. Hasil uji statistik menunjukkan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang sangat signifikan secara statistik antar kelompok perlakuan. Temuan ini memperkuat bahwa kombinasi VCO dan *Nigella sativa* memberikan efek yang lebih optimal dibandingkan pemberian tunggal maupun tanpa perlakuan dalam memperbaiki kondisi luka diabetik melalui regulasi inflamasi dan perbaikan jaringan.

Tabel 2. Rerata nilai ekspresi gen TNF alfa setelah pemberian VCO dan minyak jintan hitam dan kombinasi hari ke-14 pada model tikus diabetes.

No.	Grup	n	rerata± SD	p-value
1	Kontrol	5	1.033 ± 0.27	0,001
2	VCO	5	0.651 ± 0.13	
3	MJH	5	0.492 ± 0.07	
4	K 1	5	0.408 ± 0.16	
5	K 2	5	0.367 ± 0.25	
6	K 3	5	0.108 ± 0.01	

Berdasarkan Tabel 2 hasil pengukuran, terlihat adanya perbedaan rerata yang jelas antar kelompok perlakuan. Kelompok kontrol menunjukkan rerata tertinggi yaitu 1.033 ± 0.27 , yang mencerminkan kondisi inflamasi dan kerusakan jaringan yang masih dominan tanpa intervensi. Pemberian VCO menurunkan rerata menjadi 0.651 ± 0.13 , sedangkan pemberian minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) menghasilkan penurunan lebih lanjut dengan rerata 0.492 ± 0.07 . Hasil ini menunjukkan bahwa kedua bahan alami secara tunggal telah memberikan efek dalam menekan proses inflamasi dan mendukung perbaikan jaringan dibandingkan kontrol. Penurunan yang semakin nyata terlihat pada kelompok kombinasi. Pada kelompok K1 rerata turun menjadi 0.408 ± 0.16 , kemudian pada K2 menjadi 0.367 ± 0.25 , dan mencapai nilai terendah pada K3 yaitu 0.108 ± 0.01 . Pola penurunan bertahap ini menunjukkan adanya peningkatan efektivitas seiring dengan tingkatan kombinasi perlakuan. Hasil uji statistik menunjukkan nilai $p = 0.001$ ($p < 0.05$), yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antar kelompok. Temuan ini mengindikasikan bahwa kombinasi VCO dan *Nigella sativa* memberikan efek yang lebih optimal dalam menekan inflamasi dan mendukung proses remodeling jaringan pada penyembuhan luka diabetik dibandingkan pemberian tunggal maupun tanpa perlakuan.

Tabel 3. Rerata nilai ekspresi gen MMP 2 setelah pemberian VCO dan minyak jintan hitam dan kombinasi hari ke-7 pada model tikus diabetes.

No.	Grup	n	rerata± SD	p-value
1	Control	5	1.283 ± 0.91	0,919
2	VCO	5	1.377 ± 0.54	
3	MJH	5	1.780 ± 0.43	
4	K 1	5	1.491 ± 0.44	
5	K 2	5	1.136 ± 0.42	
6	K 3	5	1.239 ± 0.40	

Berdasarkan Tabel 3 rerata nilai parameter pada seluruh kelompok menunjukkan variasi yang tidak terlalu jauh. Kelompok control memiliki rerata 1.283 ± 0.91 . Pada kelompok VCO, rerata sedikit meningkat menjadi 1.377 ± 0.54 , sedangkan kelompok MJH menunjukkan rerata tertinggi yaitu 1.780 ± 0.43 . Pada kelompok kombinasi, rerata pada K1 sebesar 1.491 ± 0.44 , kemudian menurun pada K2 menjadi 1.136 ± 0.42 , dan sedikit meningkat kembali pada K3 yaitu 1.239 ± 0.40 . Namun demikian, hasil uji statistik menunjukkan nilai $p = 0.919$ ($p > 0.05$), yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antar kelompok perlakuan. Temuan ini menunjukkan bahwa pemberian VCO, minyak jintan hitam, maupun kombinasi keduanya pada parameter yang diamati belum memberikan pengaruh yang bermakna dibandingkan kelompok kontrol.

Tabel 4. Rerata nilai ekspresi gen MMP 2 setelah pemberian VCO dan minyak jintan hitam dan kombinasi hari ke-14 pada model tikus diabetes.

No.	Grup	n	rerata± SD	p-value
1	Control	5	1.025 ± 0.24	0,511
2	VCO	5	1.171 ± 0.79	
3	MJH	5	1.335 ± 0.44	
4	K1	5	1.465 ± 0.43	
5	K2	5	0.882 ± 0.30	
6	K3	5	1.457 ± 0.87	

Berdasarkan Tabel 4 rerata nilai parameter yang diamati menunjukkan variasi antar kelompok, namun tanpa pola penurunan atau peningkatan yang konsisten. Kelompok control memiliki rerata 1.025 ± 0.24 . Pada kelompok VCO, rerata meningkat menjadi 1.171 ± 0.79 ,

sedangkan pada kelompok MJH meningkat lebih lanjut menjadi 1.335 ± 0.44 . Pada kelompok kombinasi, rerata K1 tercatat sebesar 1.465 ± 0.43 , kemudian menurun pada K2 menjadi 0.882 ± 0.30 , dan kembali meningkat pada K3 dengan rerata 1.457 ± 0.87 . Variasi ini menunjukkan bahwa respon antar kelompok tidak menunjukkan tren yang terarah. Hasil uji statistik menunjukkan nilai $p = 0.511$ ($p > 0.05$), yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antar kelompok perlakuan. Dengan demikian, pemberian VCO, minyak jintan hitam, maupun kombinasi keduanya pada parameter yang diamati belum menunjukkan pengaruh yang bermakna dibandingkan kelompok kontrol.

DISKUSI

Ekspresi Gen TNF- α

Pada kondisi diabetes, proses perbaikan luka cenderung berlangsung lebih lambat karena fase inflamasi yang berkepanjangan (Burgess *et al.*, 2021). Temuan dalam penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi VCO dan minyak jintan hitam mampu mempercepat pemulihan luka pada hari ke-7 dan ke-14. Kelompok K3 dan K2 telah menunjukkan penurunan ekspresi TNF- α yang nyata sejak hari ke-7, dan pada hari ke-14 seluruh kelompok kombinasi mengalami penurunan lebih lanjut, dengan nilai terendah tetap berada pada kelompok K3. Hal ini mengindikasikan bahwa pengendalian TNF- α berperan penting dalam mempercepat proses penyembuhan. TNF- α sendiri dikenal sebagai mediator utama inflamasi produksi secara berlebihan, sitokin ini dapat memperpanjang inflamasi, merusak jaringan sehat di sekitar luka, dan menghambat regenerasi jaringan. Dengan menekan ekspresinya, proses inflamasi dapat dipertahankan pada tingkat yang mendukung penyembuhan tanpa menimbulkan kerusakan tambahan (Mahmoud *et al.*, 2024).

Pada luka diabetik, peningkatan sitokin proinflamasi seperti TNF- α merupakan salah satu penyebab utama keterlambatan penyembuhan (Xu *et al.*, 2013). Oleh sebab itu, strategi terapi yang berfokus pada penurunan TNF- α dipandang menjanjikan dalam

memperbaiki luaran penyembuhan luka (Goren *et al.*, 2007). Transisi dari fase inflamasi menuju fase proliferasi merupakan tahapan krusial dalam perbaikan jaringan, namun pada kondisi diabetes fase ini sering terhambat akibat inflamasi persisten yang ditandai kadar TNF- α tinggi (Xu *et al.*, 2013). Penurunan ekspresi gen TNF- α yang terdeteksi melalui RT-PCR pada penelitian ini berkorelasi langsung dengan percepatan proses penyembuhan luka.

Kandungan utama VCO yang teridentifikasi pada penelitian ini adalah asam laurat, asam kaprilat, dan asam kaprat. Asam laurat sebagai komponen dominan diketahui memiliki aktivitas antibakteri dan antiinflamasi, sekaligus merangsang proliferasi dan migrasi sel yang diperlukan dalam proses re-epitelisasi. Efek ini mendukung pembentukan jaringan epitel baru sekaligus melindungi luka dari infeksi, sehingga menciptakan kondisi yang kondusif bagi regenerasi jaringan (Intahphuak *et al.*, 2010). Sejumlah studi sebelumnya juga memperlihatkan bahwa VCO memiliki aktivitas antiinflamasi, meningkatkan pembentukan fibroblas dan pembuluh darah baru, serta mempercepat penutupan luka (Nevin *et al.*, 2010). Selain itu, VCO juga dilaporkan mampu menekan berbagai sitokin inflamasi dan memperbaiki fungsi skin barrier (Ibrahim *et al.*, 2017). Pada luka diabetik, tingginya TNF- α tidak hanya mempertahankan inflamasi tetapi juga dapat menghambat ekspresi kolagen dan TGF- β yang penting dalam proliferasi sel dan pembentukan jaringan baru (Xu *et al.*, 2013).

Minyak jintan hitam dalam penelitian ini mengandung asam linoleat dalam jumlah cukup tinggi, yang berperan dalam pemulihan barrier lipid kulit dan mendukung percepatan penyembuhan luka (Nasiri *et al.*, 2022). Komponen aktif lainnya, yaitu thymoquinone (TQ), dikenal memiliki efek antiinflamasi, antioksidan, dan antibakteri yang kuat (Kohandel *et al.*, 2021). Berbagai penelitian menunjukkan bahwa TQ mampu mempercepat penutupan luka, menurunkan mediator inflamasi dari makrofag, meningkatkan

aktivitas antioksidan, serta memperbaiki ketebalan epidermis, deposisi kolagen, infiltrasi fibroblas, dan pembentukan jaringan granulasi (Liu *et al.*, 2022).

Hasil akhir penelitian ini menegaskan bahwa aplikasi topikal kombinasi VCO dan minyak jintan hitam memberikan efek sinergis dalam menurunkan ekspresi TNF- α pada luka diabetik. Kombinasi dengan proporsi minyak jintan hitam lebih tinggi (K3) memberikan efek paling optimal sejak hari ke-7 dan tetap konsisten hingga hari ke-14. Penurunan TNF- α ini mempercepat peralihan dari fase inflamasi ke fase proliferasi, sehingga proses perbaikan jaringan berlangsung lebih cepat, inflamasi berlebih dapat dikendalikan, infiltrasi sel imun berkurang, serta risiko pembentukan jaringan parut dapat diminimalkan.

Ekspresi Gen MMP-2

Pada penelitian ini, intervensi menggunakan VCO (*Virgin Coconut Oil*) dan minyak jintan hitam ditujukan untuk mempercepat penyembuhan luka diabetik melalui pengaruh pada berbagai jalur molekuler, termasuk MMP-2 (Matrix Metalloproteinase-2) yang berperan dalam remodeling matriks ekstraseluler selama proses perbaikan jaringan (Yen *et al.*, 2022). Namun, hasil menunjukkan bahwa kadar MMP-2 tidak mengalami perubahan yang bermakna setelah intervensi. Temuan ini dapat dipahami dengan menelaah pola regulasi MMP-2 pada luka diabetes serta fase penyembuhan luka yang paling responsif terhadap kedua bahan tersebut.

Secara fisiologis, MMP-2 berfungsi mendegradasi komponen matriks ekstraseluler untuk memfasilitasi migrasi sel dan pembentukan jaringan baru (Page-McCaw *et al.*, 2007). Pada kondisi diabetes, regulasi enzim MMP sering terganggu akibat hiperglikemia kronis yang memicu ketidakseimbangan antara MMPs dan TIMPs, sehingga terjadi degradasi protein matriks yang berlebihan dan memperburuk kondisi ulkus diabetikum (Menghini *et al.*, 2013; Sandra *et al.*, 2016). Disregulasi MMP tidak hanya memperlambat penyembuhan luka, tetapi juga berkontribusi pada komplikasi vaskular seperti

penyakit arteri perifer pada diabetes (Death *et al.*, 2003; Das *et al.*, 2013).

Pada fase proliferasi, ekspresi MMP-2 dapat berada pada tingkat relatif stabil (konstitutif) sehingga tidak memerlukan modulasi tambahan. Selain itu, dominasi inflamasi kronis pada luka diabetik membuat proses remodeling jaringan menjadi kurang responsif terhadap intervensi tertentu (Thrall *et al.*, 2007). Dengan demikian, perbaikan klinis pada luka dapat terjadi tanpa disertai perubahan bermakna pada ekspresi MMP-2.

MMP-2 dan MMP-9 memang penting dalam pemecahan matriks selama penyembuhan luka, namun aktivitas yang berlebihan justru dapat merusak jaringan dan menghambat regenerasi (Chung *et al.*, 2006). Tidak signifikannya perubahan MMP-2 pada penelitian ini kemungkinan berkaitan dengan mekanisme kerja utama VCO dan minyak jintan hitam yang lebih berfokus pada penekanan inflamasi, peningkatan aktivitas antioksidan, stabilisasi membran sel, serta stimulasi proliferasi epitel dan faktor pertumbuhan di area luka. Kombinasi kedua bahan ini lebih efektif bekerja pada fase inflamasi dan proliferasi awal, sedangkan MMP-2 lebih dominan berperan pada fase remodeling.

KESIMPULAN

Penelitian ini membuktikan bahwa kombinasi VCO dan minyak jintan hitam bekerja secara sinergis dalam menekan ekspresi TNF- α , sehingga inflamasi yang berlebihan dapat dikendalikan dan proses penyembuhan luka diabetik berlangsung lebih cepat. Namun, tidak ditemukan perubahan bermakna pada ekspresi MMP-2, yang mengindikasikan bahwa mekanisme kerja utama kombinasi ini lebih dominan pada pengendalian respons inflamasi dibandingkan perbaikan matriks jaringan. Hasil ini menjadi landasan ilmiah yang kuat bagi pengembangan terapi alami sebagai alternatif dalam meningkatkan efektivitas penyembuhan luka pada penderita diabetes.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi (Kemenristekdikti) Republik Indonesia

berdasarkan Kontrak Induk Penelitian Nomor 131/C3/DT.05.00/PL/2025 tanggal 28 Mei 2025 dan Kontrak Turunan Nomor 018/LL10/DT.05.00/PL/2025 tanggal 2 Juni 2025. Penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan apresiasi yang setinggi-tingginya kepada Kemenristekdikti atas dukungan pendanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A., Husain, A., Mujeeb, M., Khan, S. A., Najmi, A. K., Siddique, N. A., & Anwar, F. (2013). A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(5), 337–352.
- Armstrong, D. G., Tan, T.-W., Boulton, A. J. M., & Bus, S. A. (2023). Diabetic foot ulcers: A review. *JAMA*, 330(1), 62–75.
- Burgess, J. L., Wyant, W. A., Abdo Abujamra, B., Kirsner, R. S., & Jozic, I. (2021). Diabetic wound-healing science. *Medicina*, 57(10).
- Chiu, H.-S., Huang, T.-S., Chen, C.-T., Lin, X.-Y., Liao, P.-C., Liou, C.-C., Hsu, C.-C., Somvanshi, S., Sumazin, P., Hsu, P.-H., Sun, C.-C., & Shyu, Y.-C. (2025). Temporal regulation of early-stage cytokine expression in diabetic wound healing under negative pressure wound therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(10), 4634.
- Chung, A. W. Y., Yang, H. H. C., Sigrist, M. K., Brin, G., Chum, E., Gourlay, W. A., & Levin, A. (2006). Matrix metalloproteinase-2 and -9 exacerbate vascular smooth muscle cell calcification and vascular calcification. *American Journal of Pathology*, 168(4), 1291–1301.
- Das, S., Mandal, M., Chakraborti, T., & Chakraborti, S. (2013). Structure and evolutionary aspects of matrix metalloproteinases: A brief overview. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 378, 31–45.
- Dayrit, F. M. (2015). The properties of lauric acid and their significance in coconut oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92(1), 1–15.
- Death, A. K., Fisher, E. J., McGrath, K. C. Y., Yue, D. K., & Jessup, W. (2003). High glucose alters matrix metalloproteinase expression in two key vascular cells: Potential impact on atherosclerosis in diabetes. *Atherosclerosis*, 168(2), 263–269.
- Goren, I., Müller, E., Schiefelbein, D., Christen, U., Pfeilschifter, J., Mühl, H., & Frank, S. (2007). Systemic anti-TNF α treatment restores diabetes-impaired skin repair in ob/ob mice by inactivation of macrophages. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(9), 2259–2267.
- Hasan, S. M., Asli, E., & Leyla, T. (2020). Autologously transplanted dermal fibroblasts improved diabetic wound in rat model. *Acta Histochemica*.
- Ibrahim, A. H., Li, H., Al-Rawi, S. S., Majid, A. S. A., Al-Habib, O. A., Xia, X., Majid, A. M. A., & Ji, D. (2017). Angiogenic and wound healing potency of fermented virgin coconut oil: In vitro and in vivo studies. *American Journal of Translational Research*, 9(11), 4936–4944.
- Intahphuak, S., Khonsung, P., & Panthong, A. (2010). Anti-inflammatory, analgesic, and antipyretic activities of virgin coconut oil. *Pharmaceutical Biology*, 48(2), 151–157.
- Jeffcoate, W. J., Vileikyte, L., Boyko, E. J., Armstrong, D. G., & Boulton, A. J. M. (2018). Current challenges and opportunities in the prevention and management of diabetic foot ulcers. *Diabetes Care*, 41(4), 645–652.



- Keshen, Q. U., Huijung, C., Yi, R., Huafa, Q., & Meng, X. (2021). Buxuahuayu decoction accelerates angiogenesis by activating the PI3K-Akt-eNOS signalling pathway in a streptozotocin-induced diabetic ulcer rat model. *Journal of Ethnopharmacology*.
- Kil, K., Choy, M. Y., & Park, K. H. (2016). In vitro differentiation of human Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells into auditory hair cells and neurons. *Journal of International*.
- Kohandel, Z., Farkhondeh, T., Aschner, M., & Samarghandian, S. (2021). Anti-inflammatory effects of thymoquinone and its protective effects against several diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 138, 111492.
- Liu, Y., Huang, L., Kim, M.-Y., & Cho, J. Y. (2022). The role of thymoquinone in inflammatory response in chronic diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10246.
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods*, 25(4), 402–408.
- Mahmoud, N. N., Hamad, K., Al Shibitini, A., Juma, S., Sharifi, S., Gould, L., & Mahmoudi, M. (2024). Investigating inflammatory markers in wound healing: Understanding implications and identifying artifacts. *ACS Pharmacology & Translational Science*, 7(1), 18–27.
- Meliala, D. I. P., Silalahi, J., Yuandani, Y., Margata, L., & Satria, D. (2019). The role of coconut oil to increase expression of MMP-9, PDGF-BB, and TGF- β 1 in NIH-3T3 cell line. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 7(20), 3733–3738.
- Menghini, R., Casagrande, V., Cardellini, M., Martelli, E., Terrinoni, A., Amati, F., Vasa-Nicotera, M., Ippoliti, A., Novelli, G., Melino, G., & Federici, M. (2013). MicroRNA 217 modulates endothelial cell senescence via SIRT1. *Journal of Biological Chemistry*, 288(7), 4687–4694.
- Nasiri, N., Ilaghi Nezhad, M., Sharififar, F., Khazaneha, M., Najafzadeh, M. J., & Mohamadi, N. (2022). The therapeutic effects of *Nigella sativa* on skin disease: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022, 7993579.
- Nevin, K. G., & Rajamohan, T. (2010). Effect of topical application of virgin coconut oil on skin components and antioxidant status during dermal wound healing in young rats. *Skin Pharmacology and Physiology*, 23(6), 290–297.
- Page-McCaw, A., Ewald, A. J., & Werb, Z. (2007). Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8(3), 221–233.
- Piran, N., Farhadian, M., Soltanian, A. R., & Borzouei, S. (2024). Diabetic foot ulcers risk prediction in patients with type 2 diabetes using classifier based on association rule mining. *Scientific Reports*, 14, Article 635.
- Sandra, F., et al. (2016). Hyperglycemia modulates MMP expression in diabetic wound environment. *Journal of Diabetes Research*.
- Thraillkill, K. M., Clay Bunn, R., & Fowlkes, J. L. (2007). Matrix metalloproteinases: Their potential role in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Endocrine Reviews*, 28(5), 595–622.



- Xie, Q., Wang, J., Huang, G., & Dai, J. (2025). Silver dressings for treating diabetic foot ulcers: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Tissue Viability*, 34(4).
- Xu, F., Zhang, C., & Graves, D. T. (2013). Abnormal cell responses and role of TNF- α in impaired diabetic wound healing. *BioMed Research International*, 2013, 754802.
- Zhang, Y., Liu, H., Yang, Y., Feng, C., & Cui, L. (2024). Incidence and risk factors for amputation in Chinese patients with diabetic foot ulcers: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Endocrinology*, 15, 1405301.