

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyembuhan luka adalah respons menyeluruh organisme terhadap cedera yang melibatkan pemulihan defek pada organ atau jaringan dan merupakan salah satu proses fisiologis paling rumit dalam kehidupan manusia. Penyembuhan luka kulit menunjukkan kompleksitas yang mencakup rangkaian seperti sistem *dotting*, respon inflamasi, neovaskularisasi, aktivitas seluler, dan remodeling matriks ekstraseluler (Thorne et.al, 2013).

Kulit manusia memiliki potensi unik untuk melakukan regenerasi sendiri, namun beberapa luka akut dapat berubah menjadi luka kronis ketika proses penyembuhan tidak berjalan secara tepat waktu dan teratur (Velnar et al., 2009). Dalam upaya untuk mempercepat penyembuhan luka kulit, penelitian telah difokuskan pada pengembangan teknologi dan pendekatan terapeutik baru. Pemilihan perban luka (*wound dressing*) merupakan elemen penting dari perawatan luka standar (Velnar et al., 2009). Prinsip fundamental yang telah membentuk industri perban luka adalah temuan bahwa lingkungan lembap merupakan lingkungan optimal untuk penyembuhan luka, khususnya untuk luka kronis (Obagi et al., 2019).

Pemilihan intervensi yang mempertimbangkan faktor lingkungan luka ini sangat penting agar proses hemostasis, inflamasi, dan proliferasi dapat berjalan sebagaimana mestinya, meminimalkan potensi kontaminasi bakteri, dan mencegah inflamasi yang tidak terkontrol yang dapat menghentikan penyembuhan (Kordestani, 2019; Velnar et al., 2009). Tatalaksana luka yang efektif diperlukan untuk memandu proses dinamis menuju pemulihan struktural dan estetika yang optimal (A. Gupta & Kumar, 2015).

Kolagen menyediakan platform tiga dimensi krusial yang mendukung migrasi seluler, adhesi, proliferasi, dan diferensiasi, yang semuanya merupakan proses fundamental untuk perbaikan dan regenerasi jaringan (Mathew-Steiner et al., 2021). Kolagen merupakan protein struktural utama dalam jaringan ikat kulit dan tulang (Araujo et.al., 2021; Mathew-Steiner et al., 2021). Secara umum, kolagen memiliki beragam aplikasi dalam industri biomedis, farmasi dan kosmetik (Mathew-Steiner et al., 2021). Kolagen secara luas diakui sebagai biomaterial penting untuk aplikasi penyembuhan luka karena peran sentralnya sebagai protein struktural paling melimpah dalam matriks ekstraseluler (ECM) jaringan ikat (Araujo et al., 2021). Sifat biologis dari kolagen, seperti biodegradabilitas, biokompatibilitas, dan antigenisitas rendah, menjadikannya kerangka kerja ideal untuk strategi rekayasa jaringan (Araujo et.al., 2021; Mathew-Steiner et al., 2021).

Membran atau pembalut kulit yang terbuat dari kolagen adalah salah satu perawatan paling efisien untuk cedera kulit (Araujo et al., 2021). Berdasarkan literatur, secara umum *wound dressing* kolagen berperan sebagai perlindungan

terhadap infeksi dan kontaminasi, mengurangi rasa sakit, dan mempertahankan kelembaban luka (Araujo et al., 2021).

Hingga saat ini, kolagen komersial kebanyakan bersumber dari mamalia darat seperti babi dan sapi. Namun, kekhawatiran mengenai potensi penularan penyakit seperti *Bovine Spongiform Encephalopathy* (BSE), *Transmissible Spongiform Encephalopathy* (TSE), dan Penyakit Mulut dan Kuku (PMK), ditambah dengan berbagai batasan agama dan etika, telah mendorong pencarian sumber kolagen alternatif yang lebih aman (de Souza et al., 2022; Mathew-Steiner et al., 2021). Organisme laut muncul sebagai sumber kolagen alternatif yang sangat menjanjikan dan berkelanjutan, menawarkan berbagai keuntungan termasuk ketersediaan yang luas, risiko penularan penyakit yang lebih rendah, antigenisitas lebih rendah dan lebih sedikit batasan agama (Farooq et al., 2024; Geahchan et al., 2022; Salvatore et al., 2020). Dari berbagai penelitian, sumber kolagen laut dapat berasal dari hewan laut vertebrata dan invertebrata. Bahkan limbah dari hewan laut seperti kulit, tulang, dan sisik ikan juga terbukti dapat dimanfaatkan sebagai sumber kolagen (Cruz, Araujo, et al., 2021; Farooq et al., 2024; Geahchan et al., 2022).

Salah satu sumber kolagen laut di Sulawesi antara lain adalah teripang laut (*Sea cucumber*). Teripang laut termasuk jenis Echinodermata dan habitatnya hampir ada di seluruh perairan Indonesia (Sugama et al., 2019). Teripang laut adalah organisme laut yang dapat digunakan dalam makanan, kosmetika, dan obat-obatan (Nugroho et al., 2022). *Holothuria scabra* atau teripang pasir (*Sand Sea Cucumber*) adalah salah satu jenis teripang laut yang sudah menjadi komoditas ekspor perikanan bernilai ekonomis tinggi di Sulawesi bahkan sejak abad ke-17 hingga sekarang (Giri et al., 2019). Teripang pasir mengandung protein kolagen tinggi, di mana sekitar 70% protein pada dinding badan teripang dapat berupa kolagen. Kolagen yang berhasil diekstraksi dari teripang pasir *H. scabra* diidentifikasi sebagai kolagen tipe I (Syahputra et al., 2021). Teripang pasir mempunyai kandungan senyawa-senyawa aktif yang sangat beragam mulai dari golongan saponin, fenol, hingga kolagen. Senyawa aktif tersebut dapat berfungsi sebagai antiangiogenik, anti kanker, anti koagulan, anti hipertensi, antiinflamasi, antimikroba, antioksidan, antitrombotik, dan sebagai bahan dasar kosmetik. Senyawa aktif yang terkandung dari teripang ini yang menjadi alasan sehingga banyak di manfaatkan sebagai bahan baku (Giri et al., 2019; Nugroho et al., 2022). Kolagen dari hewan laut termasuk teripang laut telah berhasil diisolasi melalui berbagai metode ekstraksi, namun metode ekstraksi enzimatik khususnya menggunakan pepsin terbukti menghasilkan rendemen kolagen lebih banyak dengan integritas struktur *triple helix* masih utuh dibandingkan metode ekstraksi konvensional (Saallah et al., 2021; Syahputra et al., 2021).

Hingga saat ini, permintaan akan biomaterial baru yang dapat menyediakan lingkungan penyembuhan lembab, yang sangat penting untuk pertumbuhan jaringan granulasi dan pembelahan sel, sehingga mendorong perbaikan luka yang komprehensif, terus meningkat (A. Gupta & Kumar, 2015). Berbagai penelitian dan uji klinis telah dilakukan untuk mengembangkan metode yang dapat meningkatkan

kualitas penyembuhan luka dalam hal kecepatan dan perbaikan bekas luka (Thorne et.al, 2013; Velnar et al., 2009).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti bermaksud melakukan uji eksperimental terhadap potensi kolagen larut pepsin yang diekstraksi dari dinding badan teripang pasir sebagai bahan *wound dressing* sehingga dapat dikembangkan menjadi bahan yang memiliki efek terapeutik yang digunakan secara luas.

1.2 Tinjauan Teori

1.2.1 Penyembuhan Luka

Saat cedera terjadi, proses alami penyembuhan luka akan terpicu. Berbagai aspek mekanisme penyembuhan mencakup rangkaian seperti sistem *dotting*, respon inflamasi, neovaskularisasi, aktivitas seluler, dan remodeling matriks ekstraseluler (Gupta & Kumar, 2015; Thorne et.al, 2013; Obagi et al., 2019). Meskipun bersifat kontinyu, proses penyembuhan dibagi menjadi beberapa fase terpisah untuk memudahkan pemahaman perubahan fisiologis di luka dan jaringan sekitarnya (Velnar et al., 2009).

Proses ini memerlukan interaksi multi sistem yang terkoordinasi, mencakup hemostatis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling yang pada akhirnya mengembalikan homeostasis jaringan (Thorne et.al, 2013; Velnar et al., 2009). Hemostasis merupakan respon langsung terhadap cedera jaringan. Pendarahan yang terjadi akibat kerusakan integritas jaringan diisi oleh darah, yang memaparkan darah ke berbagai komponen ECM. Proses kunci yang terjadi adalah agregasi platelet dan aktivasi faktor XII, yang menyebabkan pembentukan bekuan fibrin (*fibrin clot*). Bekuan fibrin berfungsi sebagai matriks awal di ruang luka tempat sel-sel dapat bermigrasi (Gupta & Kumar, 2015; Thorne et.al, 2013). Setelah terbentuk, mekanisme fibrinolisis juga diaktifkan untuk melarutkan bekuan fibrin agar memberikan ruang untuk migrasi sel lebih lanjut (Kordestani, 2019).

Fase inflamasi dimulai segera setelah cedera jaringan. Kapiler mengalami dilatasi dan menjadi permeabel, melepaskan plasma dan sel inflamasi utama, yaitu neutrofil dan makrofag, ke lokasi cedera (Kordestani, 2019). Tujuan fase inflamasi adalah melawan potensi kontaminasi bakteri dan mengaktifkan sekresi sitokin. Secara histologis, fokusnya adalah pada jenis dan jumlah sel radang (A. Gupta & Kumar, 2015).

Selanjutnya adalah fase proliferasi yang umumnya dimulai sekitar hari ke-4 hingga hari ke-21 pasca-cedera. Fase ini melibatkan proliferasi elemen epitel dan dermal yang menghasilkan re-epitelialisasi serta pembentukan matriks ekstraseluler primer (Thorne et.al, 2013; Gupta & Kumar, 2015). Periode ini berfokus pada perbaikan defek jaringan melalui tiga proses utama: pembentukan jaringan granulasi, kontraksi luka, dan re-epitelialisasi. Pada pembentukan jaringan granulasi, matriks fibrin sementara digantikan oleh matriks yang baru. Jaringan granulasi ini, yang kaya akan vaskularisasi baru (angiogenesis), terdiri dari fibroblas, makrofag, sel endotel, dan pembuluh darah baru. Fibroblas bermigrasi dan mengalami proliferasi, didorong oleh faktor pertumbuhan seperti PDGF dan TGF- β . Fibroblas

bertanggung jawab untuk menyintesis kolagen tipe III, yang merupakan komponen kunci dari matriks ekstraseluler baru. Secara bersamaan, keratinosit bermigrasi dan berproliferasi di atas jaringan granulasi untuk memulihkan kontinuitas lapisan epitel (A. Gupta & Kumar, 2015; Velnar et al., 2009).

Fase remodeling menandai langkah akhir menuju pematangan jaringan parut, yang dimulai kira-kira hari ke-21 dan dapat berlangsung hingga satu tahun penuh (Thorne et.al, 2013). Fase remodelling ini melibatkan rekonstruksi dermis melalui reorganisasi kolagen, fibroplasia, dan kontraksi (A. Gupta & Kumar, 2015). Selanjutnya terjadi pematangan matriks dimana kolagen tipe III yang disintesis pada fase proliferasi, diganti secara bertahap oleh kolagen tipe I. Pergantian ini meningkatkan kekuatan tarik jaringan parut. Kecepatan dan efisiensi penyembuhan luka diatur secara ketat oleh kaskade sitokin dan faktor pertumbuhan. Faktor-faktor ini memainkan peran spesifik dalam merekrut sel, mendorong pertumbuhan, dan mengatur sintesis matriks (Thorne et.al, 2013).

1.2.2 Wound Dressing

Wound dressing atau perban luka adalah material yang diaplikasikan langsung ke luka dan merupakan elemen penting dari perawatan luka standar. Idealnya, perban bertujuan untuk mendorong penyembuhan atau mencegah kerusakan jaringan lebih lanjut (Obagi et al., 2019). Peran utama perban adalah untuk menyediakan penghalang fisik pelindung sementara, menyerap cairan luka dan menyediakan kelembaban yang diperlukan untuk mengoptimalkan re-epitelialisasi. Pendekatan moderen terhadap perawatan luka sangat didasarkan pada temuan dari studi George D. Winter pada tahun 1960-an, yang menunjukkan bahwa lingkungan yang lembab adalah lingkungan yang optimal untuk penyembuhan luka, terutama luka kronis, dengan tingkat penyembuhan tiga hingga lima kali lebih cepat dibandingkan dengan lingkungan kering (Obagi et al., 2019). Tujuan tambahan untuk *wound dressing* adalah sebagai penghalang terhadap invasi bakteri, menyediakan debridemen, suplementasi enzim dan faktor pertumbuhan, serta melindungi ujung saraf bebas untuk mengurangi rasa sakit (Araujo et.al., 2021; Obagi et al., 2019). Saat ini, beberapa sediaan *wound dressing* moderen yaitu alginat, hidrokoloid, *foam*, dan gel/hidrogel.

Sediaan gel merupakan jenis *wound dressing* yang banyak dipilih untuk penyembuhan luka. Gel adalah salah satu jenis perban luka yang diakui secara klinis yang berfungsi untuk menyeimbangkan kelembaban luka. Gel paling baik digunakan pada luka kering (*dry wounds*), luka dengan eksudat ringan hingga sedang, luka nekrotik, dan pada penelitian Obagi et.al (2019) yang menggunakan gel kombinasi perak (*silver*), gel dapat berperan sebagai anti mikroba dan digunakan pada luka *non-draining* pada tatalaksana luka non-infeksi (Obagi et al., 2019).

Salah satu bahan dasar yang dapat membentuk gel, yaitu *Carboxymethyl Cellulose* (CMC) (Fan et al., 2014; Obagi et al., 2019; Sedlář et al., 2023). CMC adalah turunan selulosa yang larut dalam air dan bersifat anionic. Sifat utamanya adalah memiliki sifat higroskopis yang tinggi yang memungkinkannya terhidrasi atau diserap dengan cepat, lebih baik dalam aplikasi sebagai agen hemostatik dan

sebagai bahan dasar *wound dressing* (Fan et al., 2014; Sedlář et al., 2023). Penambahan CMC pada biomaterial alami dapat meningkatkan potensi sediaan gel sebagai *wound dressing* (Sedlář et al., 2023).

1.2.3 Kolagen

Kolagen adalah protein paling melimpah pada vertebrata, dan pada semua hewan dan merupakan kelompok protein struktural dalam matriks ekstraseluler (ECM) dengan susunan fibril (Araujo et al., 2021; Farooq et al., 2024; Souza et al., 2022). Unit struktural dasar kolagen adalah molekul *triple helix* yang dibentuk oleh tiga rantai polipeptida (Araujo et al., 2021; de Souza et al., 2022). Molekul kolagen ini terorganisir dalam urutan asam amino yang panjang, yang terdiri dari tiga domain: terminal non-*triple helix* –COOH (C-terminal), triple helix, dan terminal non-*triple helix* –NH₂ (N-terminal) (Farooq et al., 2024). Rantai polipeptida ini ditandai oleh urutan asam amino berulang (Gli–X–Y)_n, di mana X seringkali adalah prolin dan Y adalah hidroksiprolin (de Souza et al., 2022). Struktur *triple helix* ini distabilkan terutama oleh ikatan hidrogen (Farooq et al., 2024). Molekul kolagen, yang panjangnya sekitar 300 nm dan diameternya 1,5 nm, berhimpun sendiri (self-assemble) menjadi fibril kolagen (berdiameter sekitar 100 nm). Ribuan fibril ini dapat menyatu dan berikatan silang (crosslink) untuk menciptakan bahan kolagen massal yang berjenjang dan kokoh (Farooq et al., 2024).

Kolagen terlibat dalam integritas struktural banyak jaringan seperti ligamen, tendon, dan tulang (Araujo et al., 2021). Secara fundamental, kolagen bertanggung jawab untuk memberikan sifat mekanik yang sesuai pada setiap jaringan spesifik untuk penggunaan dan aktivitas seluler (de Souza et al., 2022).

Saat ini, 29 jenis kolagen telah diidentifikasi, yang masing-masing berbeda dalam sifat biofisiologis, struktur morfologis, urutan asam amino, dan distribusinya (Farooq et al., 2024). Tipe kolagen yang paling utama terlibat dalam sintesa jaringan baru dan memberikan kekuatan mekanis saat penyembuhan luka adalah kolagen tipe 1 dan tipe 3. Kolagen Tipe I adalah jenis yang paling umum dan merupakan protein utama matriks ekstraseluler mamalia (Araujo et al., 2021; Farooq et al., 2024). Kolagen tipe I, III, dan V adalah kolagen fibrilar yang paling umum di kulit (Mathew-Steiner et al., 2021). Kolagen tipe III adalah yang pertama kali disintesis pada tahap awal penyembuhan luka dan kemudian digantikan oleh Kolagen I, yang merupakan kolagen kulit yang dominan (Mathew-Steiner et al., 2021).

Deteksi dan analisis senyawa kolagen, khususnya kolagen yang diekstraksi dari hewan laut, dilakukan melalui serangkaian uji karakterisasi yang mencakup analisis gugus fungsi, struktur molekul, komposisi kimia, dan sifat fisikokimia. Analisis gugus fungsi dan konfirmasi adanya heliks merupakan uji yang sangat penting untuk memverifikasi integritas struktur triple helix dari kolagen, yang merupakan ciri khas utamanya. Uji *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) dan *Circular Dichroism* (CD) dapat digunakan untuk analisis gugus fungsi (Y. Chen et al., 2019; Ge et al., 2020; H. Li et al., 2023; Song et al., 2019; Syahputra et al., 2021). Analisis struktur molekul bertujuan untuk mengidentifikasi berat molekul komponen kolagen dan memastikan klasifikasi tipenya (biasanya Tipe I), yaitu

dengan metode *Sodium Dodecyl Sulphate–Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE) (Syahputra et al., 2021). Metode ini menilai berat molekul kolagen, komposisi subunit protein, dan memastikan keberadaan rantai monomerik khas kolagen, yaitu rantai $\alpha 1$ dan $\alpha 2$. Kehadiran pita-pita karakteristik, yaitu rantai monomerik $\alpha 1$ dan $\alpha 2$, pada analisis SDS-PAGE mengindikasikan bahwa kolagen tersebut diklasifikasikan ke dalam kolagen Tipe I (Lin et al., 2019; Mo et al., 2023; de Souza et al., 2022; Syahputra et al., 2021). Untuk analisis komposisi kimia dilakukan untuk menentukan kandungan asam amino dan kemurnian kolagen dan menentukan klasifikasi dan kualitas kolagen. Analisis ini dapat dilakukan melalui pemeriksaan komposisi asam amino dimana ciri khas kolagen didominasi oleh asam amino glisin, diikuti oleh prolin dan hidroksiprolin. Analisis ini juga mengukur hidroksiprolin, komponen utama yang berkontribusi pada stabilitas *triple helix* (El-Rashidy et al., 2015; Potaros et al., 2009; Saallah et al., 2021; Song et al., 2019; de Souza et al., 2022; Syahputra et al., 2021; Zhang et al., 2019). Selain itu, Spektrofotometri UV-Vis (*Ultraviolet-Visible*) juga dapat dilakukan untuk menilai kemurnian kolagen berdasarkan penyerapan pada panjang gelombang tertentu (Ge et al., 2020) (Saallah et al., 2021). Misalnya pada studi Li et.al (2023) kolagen tipe I menunjukkan penyerapan maksimum pada 220 nm dan 240 nm, puncak ini mengonfirmasi bahwa kolagen yang dihasilkan adalah kolagen tipe I (H. Li et al., 2023). Untuk analisis sifat fisik dan morfologi kolagen dapat melalui pemeriksaan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) untuk mengamati mikrostruktur atau morfologi fisik permukaan kolagen (misalnya, struktur serat, berongga, atau gumpalan) (Y. Chen et al., 2019; de Souza et al., 2022; Mo et al., 2023; Saallah et al., 2021; Song et al., 2019; Syahputra et al., 2021; Zhang et al., 2019). Selain itu, dapat dilakukan uji *Thermal Analysis* (DSC) untuk menentukan denaturasi suhu (T_d) pada kolagen (Ge et al., 2020; Potaros et al., 2009; Song et al., 2019).

1.2.4 Kolagen Pada Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka adalah proses kompleks yang melibatkan koordinasi temporal dan spasial dari berbagai peristiwa biokimia. Kolagen memainkan peran sentral di setiap fasenya (Mathew-Steiner et al., 2021). Pada tahap Hemostasis, saat terjadi cedera, paparan kolagen mengaktifkan kaskade pembekuan, yang menghasilkan deposisi bekuan fibrin di lokasi cedera dan menghentikan pendarahan awal (Mathew-Steiner et al., 2021).

Pada tahap inflamasi dan proliferasi Awal, fibroblas adalah sumber utama kolagen yang baru disintesis di luka. Fragmen kolagen dari degradasi bertindak sebagai kemoatraktan kuat untuk neutrofil. Kolagen juga memodulasi proses inflamasi (Araujo et.al.,2021; Mathew-Steiner et al., 2021) Fragmen kolagen berfungsi sebagai sinyal angiogenik yang kuat untuk mendorong perkembangan pembuluh darah baru. Kolagen juga mendorong proliferasi fibroblas dan sintesis faktor pertumbuhan.

Selanjutnya terjadi proses re-epitelisasi melalui mekanisme dimana kolagen mendorong migrasi keratinosit (Mathew-Steiner et al., 2021). Kemudian pada tahap remodelling, terjadi perubahan tipe kolagen dan penguatan jaringan. Kolagen Tipe

III adalah yang pertama disintesis, tetapi kemudian digantikan oleh Kolagen I, kolagen kulit yang dominan. Deposisi kolagen yang awalnya acak ditingkatkan melalui ikatan silang kovalen yang diinduksi oleh enzim, mematangkan kolagen menjadi struktur kompleks untuk pemulihan kekuatan tarik (*tensile strength*). Remodeling kolagen terus berlanjut selama berbulan-bulan setelah penutupan luka, dan kekuatan tarik jaringan yang diperbaiki dapat mencapai sekitar 80–85% dari jaringan normal (Araujo et al., 2021; Mathew-Steiner et al., 2021).

Sebagai biomaterial, kolagen memiliki sifat biokompatibel, bioaktif, dan memiliki imunogenisitas rendah. Karena sifat ini, kolagen sangat cocok untuk strategi rekayasa jaringan dan pengobatan regeneratif (Araujo et al., 2021). Namun, karena sifat mekanik kolagen murni yang lemah menyebabkan gel berbasis kolagen murni dapat mengalami degradasi sehingga penggunaan jangka panjangnya terbatas, oleh karena itu dibutuhkan penambahan polimer atau bahan dasar lain yang dapat meningkatkan kekuatan mekanik kolagen murni (Nashchekina et al., 2022).

Salah satu bentuk *wound dressing* kolagen yaitu membran kolagen yang digunakan dalam pengobatan luka telah terbukti dapat diserap (*resorbable*), bioaktif, memiliki porositas, dan mampu mendukung pertumbuhan sel (Araujo et al., 2021; Obagi et al., 2019). Selain itu, *wound dressing* berbasis kolagen tersedia dalam berbagai formulasi, termasuk dalam sediaan gel (*gels*), hidrogel, lembaran (*sheet*), atau bubuk (*powder*) (Mathew-Steiner et al., 2021). Hidrogel dan nano gel kolagen seringkali dibuat dengan mencampurkan kolagen dengan polimer alami lainnya, seperti kitosan, untuk mengoptimalkan sifat mekanik dan bioaktivitasnya (de Souza et al., 2022).

Ketika kolagen diterapkan sebagai gel atau hidrogel, sediaan ini dapat berperan penting dalam memediasi berbagai tahap penyembuhan luka dengan cara memberi kelembaban pada daerah luka dan perlindungan terhadap kontaminasi (Araujo et al., 2021; de Souza et al., 2022; Mathew-Steiner et al., 2021). Serta modulasi respon seluler, inflamasi, peningkatan vaskularisasi dan jaringan baru melalui proses angiogenesis, neo-angiogenesis dan re-epitelisasi terjadi lebih cepat (de Souza et al., 2022; Mathew-Steiner et al., 2021). Kolagen juga memiliki kemampuan untuk mendukung hemostasis melalui adsorpsi sel darah, aktivasi, dan promosi adhesi platelet (*platelet adhesion*) serta agregasi platelet. Platelet yang aktif kemudian melepaskan molekul prokoagulan (ADP, Ca^{2+}) (Sedlář et al., 2023; Nashchekina et al., 2022).

Sebuah penelitian menunjukkan bahwa kolagen alami dan bahan dasar *Carboxymethyl Cellulose* (CMC) dapat dikombinasikan untuk menghasilkan *wound dressing* yang bersifat hemostatis. (Sedlář et al., 2023). Hasil studi ini menunjukkan bahwa kombinasi kolagen dan CMC dalam bentuk sediaan lembaran, secara signifikan meningkatkan kapasitas *wound dressing* untuk absorpsi darah/air melalui mekanisme pembekuan darah (*blood clot*) dan menghentikan perdarahan. Fana et al (2014) melaporkan bahwa jika CMC (yang memiliki sedikit kapasitas antioksidan) dimodifikasi dengan peptida kolagen (yang memiliki fungsi antioksidan tinggi), maka produk turunannya menjadi *Carboxymethyl Cellulose-Collagen* (CMCC) dan menunjukkan kapasitas antioksidan yang jelas (*distinct antioxidant capacity*)

terhadap radikal DPPH, hidroksil, dan superoksida (Fan et al., 2014). Uji *Microculture Tetrazolium Technique* (MTT) menunjukkan bahwa CMC yang dimodifikasi dengan peptida kolagen (CMC-C) tidak menunjukkan efek sitotoksik pada sel fibroblas L929, bahkan pada konsentrasi maksimal yang diuji. Kemampuan untuk mencapai pengurangan aktivitas *Reactive Oxygen Species* (ROS) secara *in vitro* membuat material ini menjadi bahan yang menjanjikan untuk digunakan pada luka di masa depan (Fan et al., 2014). Salah satu potensi kekurangan dari studi ini adalah sumber kolagen yang berasal dari hewan darat potensi risiko kesehatan, terutama yang berkaitan dengan *bovine spongiform encephalopathy* (BSE) dan penyakit lain, serta alasan keagamaan (Fan et al., 2014; Sedlář et al., 2023).

1.2.5 Sumber Kolagen Pada Hewan Laut

Berdasarkan berbagai penelitian dan aplikasi yang diuraikan dalam sumber-sumber yang tersedia, kolagen laut telah diakui sebagai biomaterial yang menjanjikan karena keunggulan dan sifat bioaktifnya yang luas, mencakup sektor biomedis, kosmetik, hingga makanan (Geahchan et al., 2022; Salvatore et al., 2020). Kolagen yang diekstrak dari sumber laut menawarkan beberapa keunggulan signifikan dibandingkan kolagen yang berasal dari hewan darat (sapi, babi, kuda) (Geahchan et al., 2022; Song et al., 2019) antara lain: kolagen laut memiliki risiko penularan penyakit yang rendah (*low risk of disease transmission*), seperti *bovine spongiform encephalopathy* (BSE) dan *transmissible spongiform encephalopathy* (TSE) (Cruz, Araujo, et al., 2021; Ge et al., 2020; Geahchan et al., 2022; J. Li et al., 2018; Mo et al., 2023; Salvatore et al., 2020; Song et al., 2019). Kolagen laut pada umumnya menunjukkan imunogenisitas yang rendah dan risiko reaksi alergi yang rendah (J. Chen et al., 2019; Farooq et al., 2024; Geahchan et al., 2022; Lin et al., 2019; Mathew-Steiner et al., 2021; Mo et al., 2023; Potaros et al., 2009); penggunaan kolagen laut tidak terikat oleh batasan agama atau etika yang membatasi penggunaan produk sapi atau babi (Geahchan et al., 2022; J. Li et al., 2018; Park et al., 2012); peptida kolagen laut memiliki berat molekul yang lebih kecil, sehingga penyerapan ke dalam tubuh diperkirakan lebih cepat dibandingkan kolagen lainnya hal ini karena berat molekul kolagen laut lebih rendah (de Souza et al., 2022; Geahchan et al., 2022; Salvatore et al., 2020); keuntungan dalam hal dapat menjaga habitat lingkungan karena kolagen laut banyak diekstrak dari limbah (*by-product*) industri pengolahan ikan (kulit, tulang, sisik), sehingga membantu mengurangi polusi lingkungan dan memberikan nilai tambah pada bahan mentah (Farooq et al., 2024; Ge et al., 2020; H. Li et al., 2023; Lin et al., 2019; Pal et al., 2016; Salvatore et al., 2020).

Kolagen yang diekstrak dari sumber laut, khususnya dari ikan, sebagian besar adalah kolagen tipe I (Salvatore et al., 2020). Kolagen tipe II dapat diperoleh dari tulang rawan ikan (misalnya tulang rawan hiu), dan tipe IV dari spons laut dan beberapa ubur-ubur (Farooq et al., 2024; Geahchan et al., 2022).

Kolagen dari spesies laut menunjukkan sedikit perbedaan dalam komposisi asam amino dibandingkan kolagen mamalia (Salvatore et al., 2020). Salah satu kelemahan utama kolagen laut adalah stabilitas termal yang lebih rendah

dibandingkan kolagen mamalia, yang mungkin berpengaruh dalam aplikasi klinis (Geahchan et al., 2022; Salvatore et al., 2020). Hal ini disebabkan kandungan asam amino (prolin dan hidrokisprolin) yang lebih rendah, terutama pada spesies air dingin (Cruz, Tiago, et al., 2021; Farooq et al., 2024; Salvatore et al., 2020). Namun, kolagen dari spesies air hangat seperti Tilapia (32–37°C) dan Carp (36°C) menunjukkan resistensi termal yang cukup menjanjikan (Salvatore et al., 2020).

Banyak penelitian *in vivo* telah menunjukkan bahwa kolagen laut dapat mempercepat proses penyembuhan luka kulit pada model eksperimental dan stimulasi proses biologis seluler (Cruz, Tiago, et al., 2021; Elbially et al., 2020; Farooq et al., 2024; Geahchan et al., 2022; H. Li et al., 2023; Pal et al., 2016; Park et al., 2012; Salvatore et al., 2020). Kandungan kolagen dari berbagai spesies ikan telah diteliti seperti ikan Tilapia, ikan hiu, ikan salmon, ikan hadok dan beberapa jenis ikan lainnya (Cruz, Tiago, et al., 2021; Salvatore et al., 2020). Nila Tilapia (*Oreochromis niloticus*) adalah spesies ikan yang paling sering digunakan. Ikan nila adalah spesies perikanan yang sangat representatif secara global, dan pemrosesannya menghasilkan limbah dalam jumlah besar (sekitar 62.5% dari bahan mentah), menjadikan kulitnya sebagai sumber yang bernilai tinggi (Salvatore et al., 2020). Selain itu, beberapa penelitian *in vivo* dan *invitro* juga telah melaporkan potensi kolagen dari hewan laut invertebrate seperti ubur-ubur, spons laut, moluska, teripang, udang, dan kepiting sebagai biomaterial untuk wound dressing (Cruz, Tiago, et al., 2021; Farooq et al., 2024; Salvatore et al., 2020).

Berbagai penelitian mengenai ekstrak kolagen dari hewan laut telah dilakukan dengan umumnya memilih metode ekstraksi berbasis asam dan berbasis enzim (Cruz, Tiago, et al., 2021; Potaros et al., 2009). Secara umum, protokol ekstraksi kolagen laut mengikuti lima langkah utama terlepas dari sumber biologisnya. Pemisahan dan pembersihan; pengecilan ukuran, misalnya dengan memotong atau mencincang; penghilangan komponen non-kolagen (pre-treatment), ini adalah langkah yang sangat penting untuk menghilangkan protein non-kolagen, kalsium, lipid, dan pengotor lainnya, yang dapat menyebabkan antigenisitas; ekstraksi kolagen (via asam dan/atau enzim); dan pengendapan garam dan pemulihan (Salvatore et al., 2020). Dua metode ekstraksi yang paling sering dilaporkan dalam penelitian kolagen laut adalah ekstraksi kolagen yang dilarutkan dengan asam (asam setat) dan ekstraksi kolagen yang dilarutkan enzim seperti tripsin, papain, pepsin dan bromelin (Potaros et al., 2009) (de Souza et al., 2022). Ekstraksi berbasis asam adalah metode utama yang digunakan untuk melarutkan dan mendapatkan kolagen yang kurang terikat silang (*cross-linked*). Metode ini terbukti berhasil digunakan pada berbagai sumber laut. Beberapa studi untuk ekstraksi kolagen laut menggunakan asam asetat termasuk pada kulit hiu, kulit Tilapia, kulit *Haddock*, dan kulit *D. singhalensis* (Cruz, Tiago, et al., 2021; Salvatore et al., 2020). Kebanyakan penelitian memilih pepsin sebagai enzim yang digunakan untuk ekstraksi kolagen laut secara enzimatik (Salvatore et al., 2020). Metode ini digunakan bersama dengan penggunaan asam asetat (Cruz, Tiago, et al., 2021). Pepsin berfungsi untuk memecah daerah telopeptida non-heliks dari molekul kolagen tanpa merusak integritas *triple helix* kolagen (Farooq et al., 2024) (Farooq

et.al, 2024). Proses ini meningkatkan kelarutan kolagen, meningkatkan kemurniannya, dan mengurangi potensi antigenisitas (Farooq et al., 2024). Ekstraksi enzimatis sering kali menghasilkan rendemen (yield) kolagen yang lebih tinggi dibandingkan dengan protokol berbasis ekstraksi asam saja (Cheng et al., 2017; Cruz, Tiago, et al., 2021; Farooq et al., 2024; Mo et al., 2023).

1.2.6 Teripang Laut

Indonesia dengan garis pantai luas yang terdiri dari beberapa pulau, memiliki keanekaragaman spesies laut yang tinggi. Diantara spesies laut kelompok invertebrata, teripang laut merupakan sumber potensial baru. Bahan aktif biologis pada teripang berpotensi menjadi biomaterial untuk penggunaan industri farmasi, medis, suplemen, makanan dan kosmetik (Purcell et al., 2012).

Teripang, atau sering juga disebut mentimun laut (*sea cucumber*) atau gamat, adalah kelompok biota laut yang termasuk dalam filum Echinodermata, kelas Holothuroidea. Bentuk tubuhnya bervariasi namun umumnya menyerupai mentimun, lunak, silindris, dan berotot melingkar yang memanjang dari mulut hingga anus. (Sugama et al., 2019). Teripang memiliki fitur anatomi luar tubuh teripang yang memanjang secara oral-aboral (memanjang). Permukaan tubuhnya tebal, dan pada banyak spesies terasa berlendir. Permukaan ini ditutupi oleh papila yang berbentuk seperti kutil, kerucut, atau berdaging (Wiadnyana et al., 2009).

Distribusi spesies teripang sangat luas. Mereka ditemukan di seluruh samudra dan lautan, pada semua garis lintang, mulai dari pesisir hingga dataran abisal (laut dalam). Tahap dewasa teripang bersifat bentik (hidup di dasar laut). Spesies dapat hidup di substrat keras (batu, terumbu karang) atau di dasar lunak (permukaan sedimen atau terkubur di dalamnya). Spesies komersial di wilayah tropis didominasi oleh ordo Aspidochirotida, sedangkan ordo Dendrochirotida lebih umum di wilayah beriklim sedang (Wiadnyana et al., 2009) (Purcell et al., 2012). Dari keanekaragaman yang luas tersebut, kawasan Asia-Pasifik merupakan rumah bagi 350 spesies teripang (Nugroho et al., 2022).

Kegiatan inventarisasi sumber daya teripang yang dilakukan pada akhir tahun 1970-an di perairan Indonesia menemukan sekitar 53 jenis teripang. Jenis-jenis ini berasal dari marga *Holothuria*, *Actinopyga*, *Bohadschia*, *Labiodemas*, *Thelonota*, dan *Stichopus* (Wiadnyana et al., 2009). Dari total 53 jenis yang ditemukan terdapat 22 jenis yang dilaporkan dapat dikonsumsi. Dari jumlah yang dapat dikonsumsi, hanya sekitar 8 jenis di antaranya yang diketahui memiliki nilai pasar tinggi atau nilai komersial tinggi. Ke-8 jenis teripang yang memiliki nilai pasar tinggi tersebut adalah: (Wiadnyana et al., 2009)

1. Teripang Pasir (*Holothuria scraba*)
2. Teripang Koro (*Holothuria nobilis*)
3. Teripang Susuan (*Holothuria fuscogiva*)
4. Teripang Batu (*Actinopyga echinites*)
5. Teripang Bilabo (*Actinopyga lecanora*)
6. Teripang Lotong (*Actinopyga miliaris*)
7. Teripang Mata Kucing (*Bohadschia argus*)

8. Teripang Nanas (*Theleonata ananas*)



Gambar 1. Teripang Pasir (*Holothuria Scabra*). Sumber: <https://unair.ac.id/studi-pembenihan-teripang-pasir/>

Berdasarkan beberapa studi, keanekaragaman jenis teripang di lokasi-lokasi tertentu di Indonesia cukup tinggi. Keanekaragaman jenis tertinggi dilaporkan ditemukan di Sulawesi Utara (Teluk Kwandang, Pulau-Pulau Tiga, dan Pulau-Pulau Sangir) dengan jumlah 21 jenis. Di Kabupaten Kolaka, Sulawesi Tenggara, ditemukan 20 jenis teripang. Di perairan Alas, Nusa Tenggara Barat, ditemukan 20 jenis teripang. Di Kepulauan Seribu, tercatat ada 17 jenis teripang (Wiadnyana et al., 2009) (Giri et al., 2019).

Teripang adalah komoditas perikanan global yang sangat penting, yang diperdagangkan di lebih dari 70 negara di seluruh dunia, dikenal dalam bentuk olahan kering dengan sebutan *trepang* dan dimanfaatkan sebagai makanan dan komoditas sejak sekitar 1.000 tahun yang lalu di Tiongkok serta dianggap sebagai hidangan lezat (*delicacy*) dan makanan obat (*medicinal food*) oleh masyarakat Tiongkok dan Asia lainnya (Purcell et al., 2012).

Dalam sebuah studi yang berfokus pada aktivitas antioksidan dan antibakteri dari teripang laut, total 21 spesies teripang dikumpulkan pada tahun 2019 dari perairan Provinsi Lampung dan Pulau Lombok, teripang laut dikenal memiliki potensi biomaterial yang luas dan telah lama dimanfaatkan di berbagai bidang, mulai dari farmasi, medis dan kosmetik, berkat kandungan senyawa bioaktifnya yang tinggi. Teripang adalah sumber berbagai senyawa bioaktif yang mencakup saponin, polisakarida, dan kolagen (Nugroho et al., 2022; Sugama et al., 2019; Syahputra et al., 2021).

1.2.7 Identifikasi Teripang Pasir (*Holothuria Scabra*)

Teripang laut habitatnya hampir ada di seluruh perairan Indonesia (Sugama et al., 2019; Giri et al., 2019). *Holothuria Scabra* atau teripang pasir (*Sand Sea Cucumber*) adalah salah satu jenisnya yang sudah menjadi komoditas ekspor perikanan bernilai ekonomis tinggi di Sulawesi bahkan sejak abad ke-17 hingga sekarang. Biota laut ini dikenal dengan berbagai nama lokal di Indonesia, seperti teripang gosok (Kepulauan Karimunjawa), teripang saleh (Bojonegoro), teripang gamat betul (Riau), teripang tai

kucing (Pulau Bangka), teripang buang kulit (Lampung), teripang susuan (Menado), dan teripang kapur/teripang putih (Indonesia Bagian Timur) (Sugama et al., 2019).



Gambar 2. Morfologi Teripang Pasir, *H. Scabra* (Sumber: nelayan di Pulau Wakatobi, Sulawesi Tenggara)

Identifikasi *Holothuria scabra* dapat dilakukan secara komprehensif melalui kombinasi fitur morfologi (karakteristik luar) yang khas, penampilan setelah diolah, dan analisis detail ossikel (butir-butir kapur mikroskopis) yang ditemukan pada dinding tubuhnya (Purcell et al., 2012; Wiadnyana et al., 2009)

Umumnya, bentuk tubuh teripang adalah oval, bulat panjang (silindris) dengan sumbu oral dan aboral (Purcell et al., 2012; Sugama et al., 2019). Ukuran maksimum sekitar 40 cm; rata-rata panjang sekitar 24 cm. Bobot segar rata-rata sekitar 300 g hingga 1500 g (Purcell et al., 2012). Bagian depan tubuh berwarna putih atau abu-abu muda dengan bintik-bintik halus berwarna gelap. Bagian perutnya berwarna putih kekuning-kuningan (Purcell et al., 2012; Sugama et al., 2019). Tubuh sering tertutup oleh pasir berlumpur halus. Mulut terletak di ventral. Dikelilingi oleh 20 tentakel kecil berwarna keabu-abuan. Tentakel ini berbentuk perisai dan berfungsi mengambil makanan (Purcell et al., 2012; Sugama et al., 2019). Tiga baris kaki tabung (trivium) di sisi ventral berfungsi sebagai organ penggerak. Dua baris di sisi dorsal (bivium) berfungsi sebagai alat respirasi dan saraf penerima (Sugama et al., 2019). Untuk *H. scabra*, karakteristik utamanya adalah tubuhnya yang kasar seperti pasir, kerutan dalam melintang pada punggung, dan keberadaan ossikel berupa meja dan kancing di dinding tubuhnya (Giri et al., 2019).

1.2.8 Potensi Senyawa Bioaktif *Holothuria Scabra*

Dalam sebuah penelitian, bahan kering teripang pasir (*Holothuria scabra*) mengandung protein hingga 79.55%, lemak sekitar 5.13%, abu 4.18%, dan karbohidrat 11.13% (Desmelati et al., 2020). Potensi biomaterial utama dari *H. scabra* adalah kandungan protein strukturalnya. Kolagen dari *H. scabra* telah berhasil diekstraksi dan dikarakterisasi sebagai kolagen tipe I (Saallah et al., 2021; Syahputra et al., 2021). Molekul kolagen terdiri dari tiga rantai polipeptida yang

membentuk struktur *triple helix* yang unik. Struktur triple helix ini dikonfirmasi melalui Spektroskopi *Fourier Transform Infrared* (FT-IR) (Saallah et al., 2021). Hasil analisis FTIR yang dilakukan oleh Syahputra et.al (2021) menunjukkan adanya gugus fungsi khas kolagen (amida A, amida B, amida I, amida II, dan amida III), yang mengindikasikan struktur *triple-helix* kolagen tidak rusak (Saallah et al., 2021; Syahputra et al., 2021). Keberadaan pita Amida III (sekitar 1234 cm⁻¹ dan 1237 cm⁻¹) secara spesifik mengonfirmasi adanya struktur triple heliks (Saallah et al., 2021). Selain itu, Saallah et.al (2021) mengidentifikasi kolagen tipe I dari *H. Scabra* melalui analisis UV-Vis spectrophotometric, di mana kolagen menunjukkan puncak serapan maksimum pada 220 nm dan 240 nm.

Dinding tubuh teripang pasir (*H. scabra*) memiliki komposisi asam amino yang didominasi oleh glisin, diikuti oleh asam glutamat dan arginin. Glisin yang melimpah ini dapat memicu pembentukan ikatan hidrogen dalam untai heliks kolagen (Syahputra et al., 2021). Komposisi asam amino menentukan kestabilan termal dan aplikasi industri. Dari studi Saallah et.al (2021) kolagen *H. scabra* kaya akan glisin, asam glutamat, prolin, dan alanin. Glisin hadir pada setiap residu ketiga dalam kolagen, membentuk unit tri-peptida, kandungan asam amino (prolin dan hidroksiprolin) kolagen *H. scabra* dari studi tersebut berkisar antara 17,41% hingga 18,47% (Saallah et al., 2021).

Selain kolagen, *H. scabra* mengandung berbagai metabolit sekunder yang dikaitkan dengan manfaat yang luas. Saponin adalah metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *H. scabra* dan berhasil diidentifikasi pada studi yang dilakukan oleh (Mitu et al., 2017). Kandungan saponin dan steroid pada teripang pasir juga telah teridentifikasi secara kualitatif dalam ekstrak *H. scabra* pada penelitian yang dilakukan oleh Putra et.al (2021), kedua senyawa ini dikenal memiliki efek antiinflamasi (Putra et al., 2021). Secara khusus, Saponin memiliki fungsi ekologis bagi teripang laut, termasuk pertahanan diri terhadap predator, regenerasi anggota tubuh, dan perbaikan jaringan. Beberapa saponin spesifik yang diidentifikasi dalam dinding badan *H. scabra* meliputi *Scabraside D*, *Holothurinocide G*, *Holothurinocide C*, *Desholothurin A*, dan *Pervicoside C*. (Assawasuparek et al., 2016). *Scabraside* dan *Holothurinocide G* diprediksi memiliki potensi antioksidan dan anti-inflamasi tertinggi dibandingkan senyawa aktif lain dalam *H. scabra*. Selain itu, kedua senyawa tersebut diprediksi dapat menghambat aktivitas protein yang berkaitan dengan oxidative stress dan inflamasi yaitu iNOS (*inducible nitric oxide synthase*) dan protein KEAP1 (*Kelch ECH associating protein 1*) (Wargasetia et al., 2023). Dinding tubuh (body wall) *H. scabra* adalah sumber utama saponin dan mengandung gen biosintesis inti saponin (Mitu et al., 2017).

Asam polisakarida dan asam lemak (Palmitic acid) juga termasuk dalam daftar senyawa bioaktif yang telah diisolasi dari berbagai spesies teripang (Jattujan et al., 2022; Saallah et al., 2021). Ekstrak *H. scabra* juga menunjukkan aktivitas antifungal terhadap *Aspergillus niger* (Mohammadizadeh et al., 2013). Beberapa penelitian juga menunjukkan aktivitas antikanker dari ekstrak *H. scabra*. Pranweerapaiboon et.al (2021) melaporkan bahwa ekstrak metanolik *H. scabra* dapat menginduksi apoptosis dan menekan metastasis sel kanker prostat PC3

melalui jalur pensinyalan MAPK (Pranweerapaiboon et al., 2021). Ekstrak *H. scabra* juga menginduksi apoptosis pada sel glioblastoma dan menekan *Warburg Effect* pada sel kanker payudara MDA-MB-23 berdasarkan studi oleh Yuraskapong et al (2021). Berdasarkan studi Wargasetia et.al (2023), senyawa Scabraside D telah terbukti dapat menginduksi apoptosis dan menghambat metastasis pada karsinoma kolangiokarsinoma manusia melalui penekanan ekspresi iNOS dan STAT-3 (Assawasuparek et al., 2016; Wargasetia et al., 2023).

Noonong et.al (2020) melaporkan bahwa senyawa fenolik, termasuk 3-hydroxybenzaldehyde dan 4-hydroxybenzaldehyde, juga telah diisolasi dari seluruh tubuh *H. scabra*. Kedua senyawa ini merupakan senyawa murni yang menunjukkan aktivitas antioksidan (Noonong et al., 2020). Nobsathian et.al (2017) juga menggambarkan bahwa ekstrak metanol kasar dari seluruh tubuh *H. scabra* menunjukkan kandungan fenolik total yang tinggi, yaitu sebesar 30.52 ± 0.21 GAE/g bobot kering. Tingginya kandungan fenol ini berhubungan langsung dengan aksi antioksidan, karena fenol memiliki kemampuan penangkal radikal bebas yang kuat (Nobsathian et al., 2017),

Ekstrak *H. scabra* memiliki potensi neuroprotektif dan neurorestoratif terhadap neuron dopaminergik pada model Parkinson secara in vivo dan in vitro (Noonong et al., 2020). Senyawa 2-Butoxytetrahydrofuran (2-BTHF) berhasil diisolasi dari fraksi etil asetat dan butanol pada dinding tubuh teripang pasir (*Holothuria scabra*). Senyawa ini menunjukkan berbagai manfaat biologis dan farmakologis yang berpusat pada sifat anti-penuaan (*anti-aging*) dan perlindungan saraf (*neuroprotective*), sebagaimana didemonstrasikan dalam model *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) (Chalorak et al., 2021; Jattujan et al., 2022; Tangrodchanapong et al., 2021). *Diterpene glycosides* dari *H. scabra* juga memberikan neuroproteksi terhadap neurodegenerasi yang dimediasi α -synuclein pada model *C. elegans* (Chalorak et al., 2021; Tangrodchanapong et al., 2021).

Selain itu, kemampuan anti koagulan juga ditemukan pada *H. Scabra*. Yang et.al (2018) melaporkan bahwa senyawa *fucosylated chondroitin sulfate* (HsG) dengan berat molekul rata-rata yaitu 69.1 kDa berhasil diisolasi dari teripang laut *H. Scabra*. Aktivitas antikoagulan dari HsG dievaluasi dan dibandingkan dengan heparin. Hasilnya menunjukkan jika dibandingkan dengan heparin, aktivitas anti koagulan HsG dapat memperpanjang *activated partial thromboplastin time* (aPTT) yang memiliki arti bahwa HsG memiliki efek serupa dengan heparin dalam memperlambat pembekuan darah (Yang et al., 2018).

Aktivitas antibakteri juga terdeteksi dalam ekstrak *H. scabra* meskipun dalam beberapa penelitian melaporkan aktivitas antibakteri *H. scabra* kurang efektif. Nugroho et.al (2021) menyimpulkan bahwa dari 4 jenis bakteri, ekstrak kasar *Holothuria scabra* menunjukkan zona penghambatan terukur hanya terhadap *Vibrio cholerae* dalam uji *disk diffusion* dan memiliki aktivitas antibakteri paling lemah dibandingkan 3 jenis teripang laut lainnya (Nugroho et al., 2022). Dari penelitian Rahmah et. Al (2023) Ekstrak metanol teripang putih (*H. scabra*) Mentawai konsentrasi 8%, memiliki zona hambat terhadap *S. sanguis* pada stomatitis aftosa

rekuren tetapi dalam kategori lemah dan kurang efektif jika dibandingkan dengan kontrol positif yaitu *chlorhexidine* 0,2% (Rahmah et al., 2024).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah diuraikan tersebut di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah ekstrak kolagen larut pepsin teripang pasir (*Holothuria scabra*) berpotensi sebagai bahan *wound dressing* bioaktif?

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Untuk menganalisis potensi kolagen dari sumber laut yaitu teripang pasir *Holothuria scabra* sebagai bahan penyembuhan luka

1.4.2 Tujuan Khusus

Untuk mengetahui karakteristik fisik dan potensi bioaktif dari kolagen larut pepsin teripang pasir *Holothuria scabra* sebagai bahan *wound dressing*.

1.4.3 Tujuan Jangka Panjang

Menghasilkan *wound dressing* untuk penggunaan dalam bidang medis dan farmasi berbahan dasar kolagen dari hewan laut secara khusus teripang laut jenis *Holothuria Scabra* dari perairan Sulawesi.

1.5 Manfaat

1.5.1 Manfaat Perkembangan Ilmu

- a. Memberikan dan menambah pengetahuan ilmiah tentang pemanfaatan hewan teripang pasir di bidang medis, khususnya untuk penyembuhan luka.
- b. Menjadi salah satu acuan yang bisa digunakan untuk memperkaya ilmu pengetahuan pada umumnya dan khususnya di bidang kedokteran gigi, bedah mulut dan maksilofasial serta mendalami potensi maritim.

1.5.2 Manfaat Penelitian

Memberikan bukti ilmiah tentang potensi kolagen larut pepsin teripang pasir sebagai *wound dressing* dan diharapkan dapat memberikan sumbangsih dalam perkembangan pengobatan dengan menggunakan bahan biota laut pada bidang kedokteran gigi.

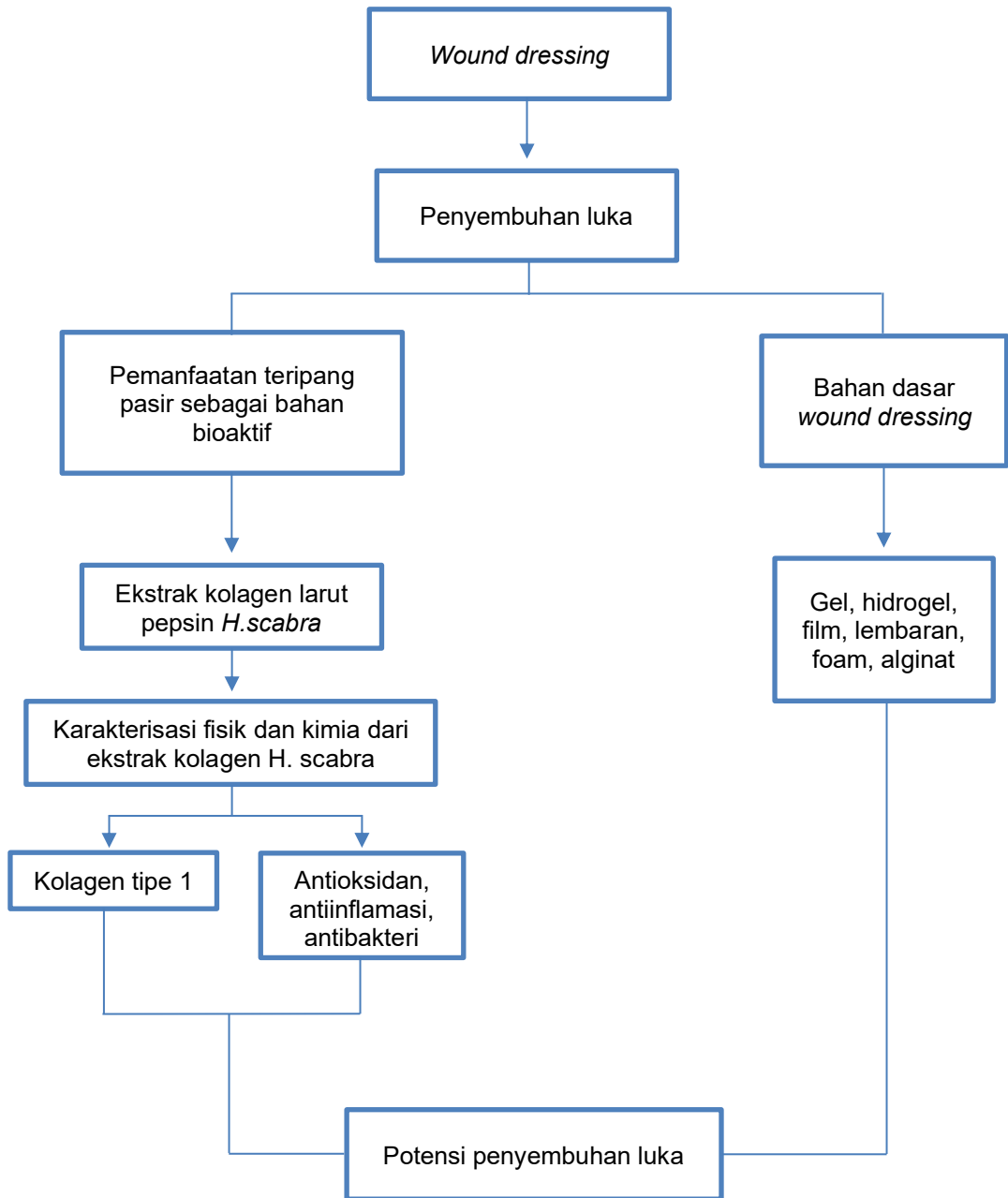
1.6 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah ekstrak kolagen larut pepsin teripang pasir *H. scabra* memiliki karakteristik fisik dan senyawa bioaktif yang mendukung penyembuhan luka.

BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Kerangka Teori

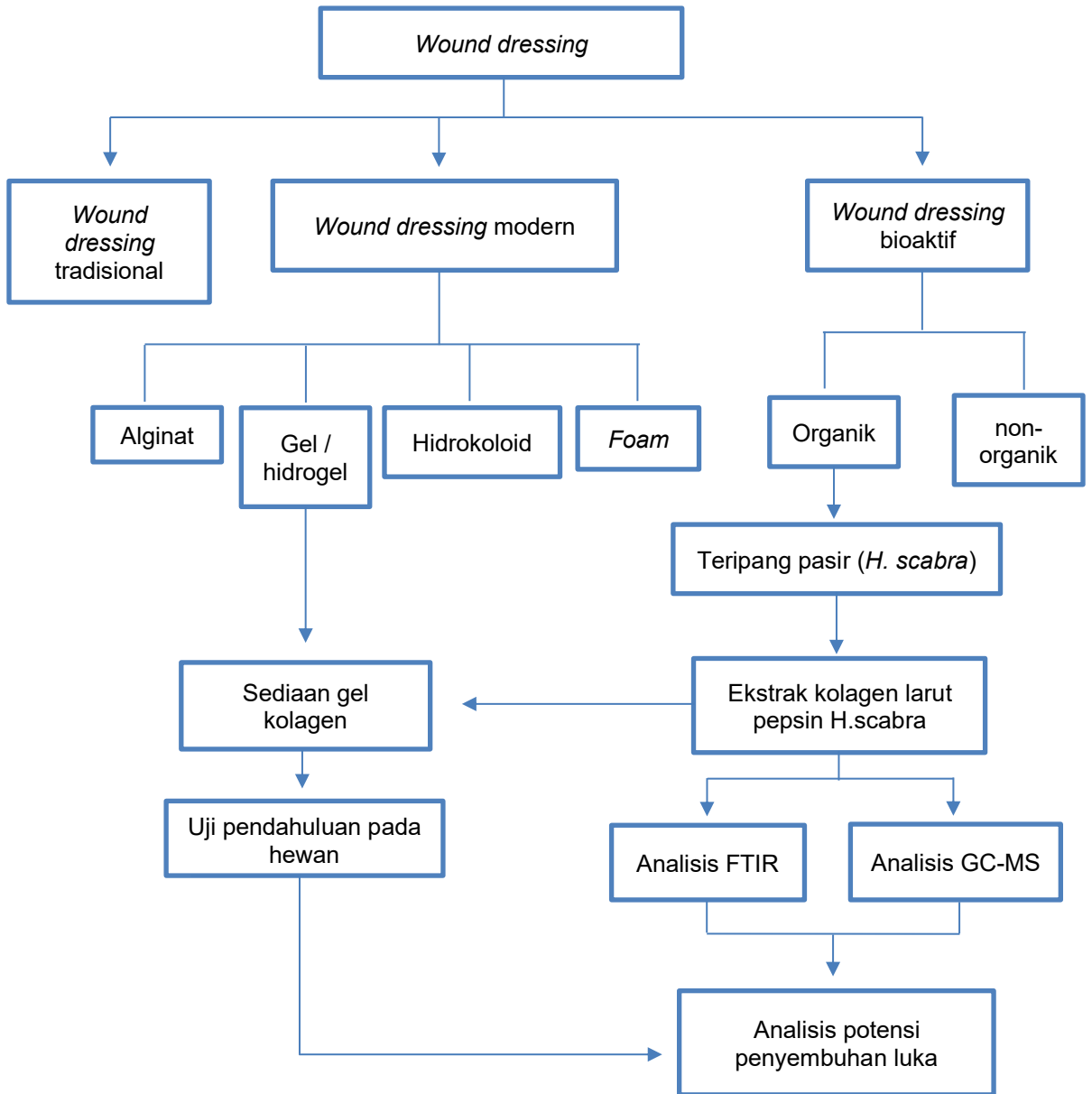
Wound dressing utamanya digunakan untuk mencapai penyembuhan luka optimal. Teripang pasir *Holothuria scabra* yang banyak ditemukan di perairan laut Pulau Wakatobi, Sulawesi Tenggara, dapat dimanfaatkan sebagai bahan bioaktif yang berpotensi menjadi bahan dasar *wound dressing* dalam bentuk sediaan gel, hidrogel, film, lembaran, foam dan alginat untuk penyembuhan jaringan luka. Untuk pemeriksaan lebih lanjut pada ekstrak kolagen larut pepsin *H.scabra*, maka dilakukan karakterisasi fisik dan kimia melalui analisis *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) untuk konfirmasi gugus fungsi senyawa kolagen dan analisis *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif pada ekstrak kolagen teripang pasir. Hal ini diharapkan dapat menunjukkan potensi ekstrak kolagen larut pepsin teripang pasir sebagai bahan bioaktif yang dimanfaatkan untuk pembuatan *wound dressing*.



Gambar 3. Kerangka Teori

2.2 Kerangka Konsep

Berdasarkan perkembangan ilmu biomaterial, *wound dressing* dapat dikategorikan menjadi tiga kelompok utama, yaitu *wound dressing* tradisional, *wound dressing* modern, dan *wound dressing* bioaktif. *Wound dressing* tradisional seperti kasa steril umumnya hanya berfungsi hanya sebagai pelindung fisik. Seiring perkembangan teknologi biomaterial, dikembangkan *wound dressing* modern yang meliputi berbagai bentuk sediaan seperti alginat, gel/hidrogele, hidrokoloid, dan *foam*. Lebih lanjut, muncul konsep *wound dressing* bioaktif yang terdiri dari sumber organik maupun non-organik. Salah satu sumber organik potensial adalah teripang pasir (*Holothuria scabra*), organisme laut yang diketahui kaya akan senyawa bioaktif, termasuk kolagen. Melalui proses ekstraksi enzimatik menggunakan pepsin, diperoleh ekstrak kolagen larut pepsin (*Pepsin-Solubilized Collagen/PS*) *H. scabra*. Lebih lanjut, kolagen larut pepsin hasil ekstraksi dari *H. scabra* kemudian diperiksa menggunakan uji FTIR untuk mengkonfirmasi gugus fungsi khas kolagen, serta uji GC-MS untuk mengidentifikasi kandungan senyawa bioaktif yang berpotensi memberikan efek penyembuhan luka. Untuk melihat tren arah penyembuhan luka dari kolagen larut pepsin *H. Scabra* maka dilakukan uji pendahuluan pada hewan.



Gambar 4. Kerangka Konsep

2.3 Besar Sampel dalam Penelitian

Penelitian ini menggunakan total 365 gram teripang pasir *Holothuria scabra* utuh kering yang kemudian dikeluarkan isi perutnya dan diambil bagian dinding tubuhnya sehingga menghasilkan berat bahan uji sebesar 170 gram.

Pada penelitian ini juga dilakukan pengujian in vivo secara pendahuluan pada enam ekor tikus jantan (*Rattus novergicus*) sehat dengan berat rata-rata 300-400 gram yang seluruhnya dibuat luka insisi pada kulit punggung. Tiga ekor tikus diberi perlakuan ekstrak wound dressing dan tiga ekor tikus lainnya dibiarkan tanpa perlakuan sebagai kontrol. Kontraksi luka diamati pada hari ke-4 setelah aplikasi. Desain ini merupakan studi awal dengan jumlah hewan terbatas sehingga hasil yang diperoleh bersifat eksploratif.

2.4 Populasi dan Teknik Sampel

Populasi penelitian : Teripang laut yang berada di perairan laut Wakatobi, Sulawesi Tenggara, Indonesia.

Sampel Penelitian : Teripang pasir (*Holoturia Scabra*) yang berada di perairan laut Wakatobi, Sulawesi Tenggara, Indonesia yang diseleksi berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi pada penelitian ini.

2.4.1 Kriteria Inklusi

- a. Teripang laut spesies *Holoturia Scabra*
- b. Berat rata-rata 200-300 gram
- c. Sehat (kulit tidak rusak dan bagian tubuh utuh)

2.4.2 Kriteria eksklusi

- a. Teripang laut yang rusak saat diterima karena proses transportasi.