

Peptida Kolagen Ikan Layang Biru (*Decapterus macarellus*) Mempercepat Penyembuhan Luka Pada Mencit

Elisa Herawati*, Vicky Alvino Setyawan dan Shanti Listyawati

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36A, Surakarta, Indonesia, 57126.

*email korespondensi: elisahera@staff.uns.ac.id

Diterima 28 Mei 2023, Disetujui 31 Juli 2023, Dipublikasi 31 Juli 2023

Abstrak: Suplemen peptida memainkan peran penting dalam proses penyembuhan luka karena memiliki bioaktivitas yang bekerja pada fase-fase luka sehingga luka cepat menutup. Bahan aktif ini dapat diekstrak dari organisme laut seperti ikan, hanya saja, kajian mengenai aplikasi suplemen berbahan ikan sebagai produk perawatan luka masih terbatas jumlahnya. Penelitian ini bertujuan menguji efektivitas pemberian peptida kolagen ikan *Decapterus macarellus* secara oral dalam mempercepat penyembuhan luka kulit pada mencit. Dosis yang digunakan adalah 0,3 g/kgBB dan 1,3 g/kgBB per hari. Pengujian dilakukan dengan mengamati struktur morfologis dan histologis proses regenerasi jaringan kulit pasca luka selama 21 hari. Peptida kolagen diperoleh dari kulit ikan melalui ekstraksi menggunakan kombinasi asam asetat dan pepsin, kemudian dilanjutkan hidrolisis dengan enzim kolagenase. Mencit yang mendapat suplementasi oral peptida kolagen menunjukkan akselerasi proses penyembuhan luka yang signifikan dibandingkan kelompok mencit kontrol. Pada hari ke-11 hingga 14 pasca luka, mencit yang diberi perlakuan peptida kolagen (dosis 1,3 g/kgBB) menunjukkan presentase penurunan diameter luka yang lebih tinggi, diferensiasi jaringan neo-epidermis yang lebih cepat, serta deposisi berkas kolagen yang lebih banyak. Berkas kolagen dengan struktur retikuler juga terlihat pada kelompok perlakuan yang mengindikasikan adanya maturasi jaringan pengikat. Hasil penelitian ini membuktikan peran positif peptida kolagen *D. macarellus* terutama pada fase maturasi, dimana jaringan pengikat baru mengalami reorganisasi untuk memberikan kekuatan tarik. Informasi ini bisa menjadi referensi efektivitas peptida kolagen yang bersumber dari ikan laut sebagai bahan produk perawatan luka.

Kata kunci: *Decapterus macarellus*; penyembuhan luka; peptida kolagen

Abstract. *Decapterus macarellus* Fish Collagen Peptides Accelerate Wound Healing In Mice. Peptide supplements play an important role in the wound healing process as a result of their bioactivity, which is crucial to the phases of the wound and helps the wound heal quickly. These active ingredients can be extracted from marine organisms such as fish, however, studies on the application of fish-based supplements as wound care products are still limited. This study aimed to investigate the effectiveness of oral administration of *Decapterus macarellus* fish collagen peptides in accelerating skin wound healing in mice. The doses used were 0.3 g/kgBW and 1.3 mg/kgBW per day. A 21-day observational study of the morphological and histological structures of the post-wound skin tissue regeneration process was conducted. Collagen peptides were obtained from fish skin through extraction using a combination of acetic acid and pepsin, then followed by hydrolysis with collagenase enzymes. Mice supplemented with oral collagen peptides demonstrated a significant enhancement of wound healing compared to the control group. Collagen peptide-treated mice (dose 1.3 g/kgBW) displayed a greater percentage reduction in wound diameter on days 11–14 post-injury, as well as a faster differentiation of neo-epidermal tissue and more collagen bundle deposition. The treatment group also displayed collagen bundles with reticular structures, indicating connective tissue maturation. The findings of this study demonstrated the beneficial effects of *D. macarellus* collagen peptides, particularly

during the maturation phase, when the newly formed connective tissue goes through a process of reorganization to provide tensile strength. The provided information serves as a point of reference to evaluate the efficacy of collagen peptides obtained from marine fish when utilized as a constituent in wound care products.

Keywords: *Decapterus macarellus*; wound healing; collagen peptide

1. Pendahuluan

Peptida kolagen memiliki potensi tinggi sebagai bahan utama produk nutrasetikal dan obat karena memiliki bioaktivitas dengan spektrum yang luas. Bioaktivitas peptida kolagen dalam penyembuhan luka kulit sudah pernah dilaporkan sebelumnya (Acevedo *et al.*, 2019; El Masry *et al.*, 2019), namun riset yang menggunakan peptida kolagen laut masih sangat terbatas jumlahnya. Berbeda dengan peptida kolagen yang diekstrak dari sapi, babi, dan ayam, peptida kolagen yang bersumber dari organisme laut, misalnya ikan, belum banyak dieksplorasi. Peptida kolagen ikan memiliki biokompatibilitas yang tinggi serta tingkat antigenesitas yang lebih rendah (Naomi *et al.*, 2021). Dengan demikian, peptida kolagen ikan dapat dikembangkan menjadi bioproduk unggul dalam industri kesehatan dan kosmetik.

Pasar industri farmasi terkait senyawa/prosedur penyembuhan luka diprediksi naik sampai \$22,81 milyar (2022) dari market sebelumnya sebesar \$18,99 milyar (2018) (Markets and markets, 2022). Faktor pendorong pertumbuhan pasar ini antara lain karena meningkatnya: 1) prevalensi luka kronis dan luka akut, 2) populasi usia lanjut, 3) kemajuan riset di bidang perawatan luka, 4) jumlah kecelakaan lalu lintas jalan secara global, dan 5) kesadaran tentang perawatan luka.

Luka kulit yang dirawat dengan tepat akan mempercepat proses menutupnya luka, regenerasi jaringan kulit, serta meminimalkan reaksi inflamasi (Aryati *et al.*, 2018; Susanto *et al.*, 2023). Penyembuhan luka pada kulit terdiri atas fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan maturasi hingga luka menutup sempurna (Gonzalez *et al.*, 2016). Kolagen memainkan peran penting sebagai molekul sinyal dalam pengaturan semua fase penyembuhan luka. Hasil penelitian yang telah dilakukan Zhou *et al.*, (2016) menunjukkan bahwa perawatan luka topikal berbasis kolagen ikan tilapia dapat merangsang proliferasi dan diferensiasi sel-sel keratinosit pada jaringan baru yang terbentuk. Selain itu, tidak ditemukan respons imun yang abnormal, sehingga kolagen ikan aman digunakan. Suplementasi oral peptida kolagen dari spesies ikan laut lainnya juga dilaporkan meningkatkan angiogenesis (Wang *et al.*, 2015), deposisi berkas kolagen, kekuatan tarik mastriks jaringan pengikat (Yang *et al.*, 2018), dan secara keseluruhan mempercepat laju penyembuhan luka. Dalam perspektif nutrisi, peptida kolagen kaya akan glutamin dan arginin yang merupakan asam amino esensial ketika terjadi trauma dalam tubuh (Fuentes-Orozco *et al.*, 2004). Konstituen lainnya berupa asam amino rantai cabang yang

memiliki berbagai fungsi fisiologis seperti mengurangi pemecahan protein otot, meningkatkan sintesis protein, mengoreksi keseimbangan nitrogen negatif, dan meningkatkan imunitas (Yang *et al.*, 2018). Oleh karena itu, konsumsi peptida kolagen laut diharapkan efektif untuk akselerasi penyembuhan luka.

Ikan pelagis (ikan yang hidup di kedalaman sedang) memiliki nilai ekonomi tinggi dan tersebar luas di lautan Indonesia. Ikan ini merupakan hasil tangkapan yang dominan di daerah Sulawesi Barat dengan hasil tangkapan rata-rata di mencapai 2.918 ton/tahun (Nuraini, 2019). Faktor kelimpahan yang cukup tinggi menjadikan pemanfaatan ikan menarik untuk dikaji lebih lanjut. Pemanfaatan ikan laut umumnya sebatas untuk dikonsumsi sebagai sumber protein (Herawati *et al.*, 2021). Pada kajian awal telah dilaporkan bahwa peptida kolagen dari ikan *Decapterus macarellus* potensial dikembangkan menjadi produk nutrasetikal karena memiliki bioaktivitas antioksidan, anti-glikasi dan anti-tyrosinase secara *in vitro* (Herawati *et al.*, 2022). Senyawa ini juga meningkatkan viabilitas kultur sel fibroblas yang diberi iradiasi ultra violet B secara kronis maupun akut (Kristin, 2021; Prasasti, 2022), serta dapat terserap oleh tubuh, dan meningkatkan deposisi berkas kolagen pada jaringan kulit normal (Pratiwi, 2022). Peptida kolagen *D. macarellus* saat ini belum diketahui apakah memberikan efek positif dalam proses penyembuhan luka. Penelitian ini bertujuan menguji secara *in vivo* efektivitas suplementasi oral peptida kolagen *D. macarellus* dalam mempercepat penyembuhan luka kulit pada mencit. Pengujian dilakukan dengan mengamati morfologi dan histologi proses regenerasi jaringan kulit pasca luka.

2. Bahan dan Metode

2.1. Pembuatan peptida kolagen

Metode yang digunakan mengacu pada Felician *et al.*, (2019) dan Herawati *et al.*, (2022) dan dijelaskan secara singkat sebagai berikut. Ikan *D. macarellus* berukuran 15-30 cm dengan bobot 70-200 gram dicuci dengan air mengalir, lalu dikuliti secara manual menggunakan pisau. Kulit dipotong sebesar $1 \times 1 \text{ cm}^2$, kemudian diesktraksi menggunakan campuran asam asetat dan pepsin (Sigma-Aldrich, EC3.4.23.1) selama 48 jam pada suhu 4°C . Kolagen yang diperoleh (1 gram) dilarutkan dalam 200 ml air ultra murni dan dimasukkan ke dalam waterbath pada suhu 37°C . Pada larutan ini ditambahkan enzim kolagenase II (Sigma-Aldrich, C2-28) sebanyak 1% (w/w) dan diaduk selama 5 jam. Reaksi enzimatik diakhiri dengan memanaskan campuran pada suhu 95°C selama 10 menit. Campuran didinginkan pada suhu kamar, selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Supernatan dikeringbekukan (selanjutnya disebut peptida kolagen *D. macarellus*) dan disimpan dalam suhu 4°C sampai diujikan pada mencit. Perhitungan persentase rendemen kolagen dapat dilihat pada Persamaan 1.

2.2. Mengukur pH

Peptida kolagen *D. macarellus* (0,5 gram) dilarutkan dalam 25 mL aquades dan dihomogenkan. Alat pH meter yang sudah dikalibrasi dengan larutan standar pH 7 dan pH 4 dicelupkan dalam larutan kolagen beberapa saat sampai diperoleh nilai pH yang stabil (Association of Official Analytical Chemist, 2005).

$$\text{Rendemen Kolagen (\%)} = \frac{\text{Berat kering kolagen}}{\text{Berat kering kulit ikan}} \times 100\%$$

Persamaan 1. Perhitungan persentase rendemen kolagen yang dihasilkan oleh ikan *D. Macarellus* (Herawati *et al.*, 2022).

2.3. Pembuatan luka kulit dan perlakuan peptida kolagen *D. macarellus* secara oral pada mencit

Prosedur penggunaan hewan uji telah mendapatkan izin kelayakan etik dari Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Surakarta (No.3395/A.1/KEPK-FKUMS/III/2021). Pemeliharaan hewan uji dilakukan di UPT Lab Terpadu, Universitas Sebelas Maret, dengan kondisi lingkungan bersuhu 24-27°C, kelembapan relatif 70%, pemberian makan dan minum diberikan secara *ad libitum*. Mencit (*Mus musculus* L.) galur C57BL/6 jantan berusia 2 bulan, berat 40-50 gram, dibagi secara acak menjadi 3 kelompok yaitu, 1) peptida kolagen 0,3 g/kgBB/hari (PK-0,3), 2) peptida kolagen 1,3 g/kgBB/hari (PK-1,3), 3) kelompok kontrol (akuades). Setiap kelompok terdiri dari 6 ekor mencit. Mencit dianastesi terlebih dahulu menggunakan dietil ether secara inhalasi sebelum luka dibuat. Bagian dorsal mencit seluas 4 cm × 2 cm dicukur rambutnya, kemudian dibersihkan dengan alkohol 70%. Luka kulit dibuat pada area dorsal yang bebas dari rambut menggunakan *dermal puncher* berdiameter 2 mm. Luka dibiarkan tanpa penambahan antimikroba. Peptida kolagen *D. macarellus* dilarutkan menggunakan akuades sesuai dosis yang ditentukan, kemudian diberikan secara oral (volume 500 µl) menggunakan sonde. Larutan ini diberikan setiap hari selama periode perlakuan yaitu 21 hari. Proses penyembuhan luka diamati mulai dari hari luka terbentuk (hari ke-0). Diameter luka diukur setiap pagi sebelum perlakuan menggunakan jangka sorong. Pada hari ke-7, ke-14 dan ke-21, representatif mencit dari tiap perlakuan dieutanasia dengan cara dislokasi serviks untuk diambil sampel jaringan kulit dorsalnya.

2.4. Pembuatan preparat jaringan kulit mencit

Sampel jaringan kulit dorsal mencit ketebalan 4 mm difiksasi dalam *Neutral Buffered Formalin* 10% selama 24 jam. Jaringan diproses lebih lanjut melalui serangkaian prosedur standar meliputi dehidrasi dengan alkohol bertingkat dan impregnasi dengan parafin. Blok parafin dipotong setebal 5 µm. Pewarnaan yang digunakan yaitu *Hematoxylin Eosin* (HE) untuk melihat struktur keseluruhan suatu jaringan, serta pewarnaan *Mallory blue* yang digunakan

untuk melihat berkas kolagen (Maide *et al.*, 1975). Pewarnaan *Mallory Blue* memberikan warna biru pada kolagen dan warna merah pada sitoplasma, otot, dan keratin (Prophet *et al.*, 1992).

2.5. Pengamatan mikroskopis

Preparat jaringan kulit diamati dengan mikroskop cahaya (Nikon, Japan) dengan perbesaran 200-400×. Deposisi berkas kolagen dihitung sebagai persentase pixel area warna kolagen dibandingkan dengan pixel warna area seluruh jaringan suatu lapang pandang menggunakan aplikasi *Image Raster*. Lapang pandang yang diambil yaitu bagian sekitar luka tepatnya dibagian dermis (Palumpun *et al.*, 2017).

2.6. Analisis data

Data persentase pengurangan diameter luka dan deposisi berkas kolagen dianalisis dengan *one-way* ANOVA dan dilanjutkan dengan *Duncan's post-hoc test* apabila terdapat perbedaan signifikan antar kelompok pada $p < 0,05$. Analisis struktur morfologis dan histologis kulit disajikan secara deskriptif komparatif.

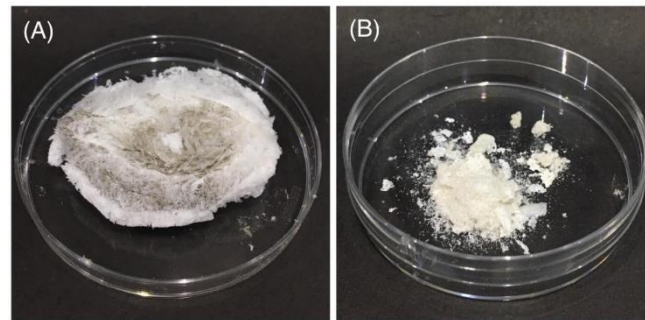
3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Pembuatan peptida kolagen *Decapterus macarellus*

Ekstraksi kulit *D. macarellus* menghasilkan rendemen kolagen sebesar $6,39 \pm 1,37$ % (b/b) serta pH $6,77 \pm 0,26$. Rendemen kemudian di kering bekukan dan dihasilkan kolagen kering berupa padatan spons berwarna putih keabuan dan tidak berbau (Gambar 1A). Sampel ini telah memenuhi Standar Mutu Kolagen Berdasarkan SNI 8076 2014 yaitu kolagen cenderung putih, tidak berbau dan pH 6,5-8 (BSN, 2014). Penelitian sebelumnya telah melaporkan bahwa kolagen yang diperoleh merupakan kolagen tipe I yang memiliki aktivitas antioksidan sedang (Herawati *et al.*, 2022), dengan demikian berpotensi digunakan sebagai bahan nutrasetikal. Selanjutnya, produk kolagen dihidrolisis dengan 1% enzim kolagenase untuk menghasilkan peptida kolagen *D. macarellus* yang berbentuk serbuk putih dengan pH $7 \pm 0,16$ (Gambar 1B). Peptida kolagen *D. macarellus* diberikan secara oral pada mencit untuk mengetahui efektivitasnya sebagai suplemen perawatan luka kulit).

3.2. Morfologi dan diameter luka kulit pada mencit setelah perlakuan dengan peptida kolagen *D. macarellus*

Luka pada bagian dorsal mencit dibuat dengan *dermal puncher* dan menghasilkan luka eksisi ketebalan penuh (*full-thickness excised wound*) dengan diameter masing-masing 2 mm. Pada hari pertama, luka terlihat membengkak yang kemudian hilang pada hari ke-4, meskipun area luka masih berwarna merah (Gambar 2). Pada tahap ini (hari ke-4) keropeng sudah terbentuk pada semua kelompok.



Gambar 1. Produk yang diperoleh dari ekstraksi kulit ikan *Decapterus macarellus*. (A) kolagen, (B) peptida kolagen.

Area luka menutup secara bertahap dan ditandai dengan berkurangnya diameter luka. Hari ke-7 menunjukkan penurunan diameter luka tampak hampir sama di semua kelompok perlakuan (Tabel 1). Perlakuan hari ke-11, kelompok PK-1,3 menunjukkan rata-rata penurunan diameter luka paling signifikan ($p < 0,05$) yaitu 89,5% diikuti oleh kelompok PK-0,3 (78,6%) dan kontrol (68,92%). Bahkan terdapat dua mencit di kelompok PK-1,3 yang lukanya sudah menutup rapat di hari ke-11. Area luka menutup sempurna di hari ke-11 pada kelompok PK-0,3 dan PK-1,3, sedangkan pada kelompok kontrol masih tampak sedikit cekungan bekas luka (Gambar 2). Infeksi tidak dijumpai pada semua kelompok mencit selama proses penyembuhan luka.



Gambar 2. Morfologi luka eksisi pada kulit dorsal mencit pada kelompok kontrol (akuades), kelompok perlakuan dengan peptida kolagen *D. macarellus* dengan dosis 0,3 g/kgBB/hari (PK-0,3) dan 1,3 g/kgBB/hari (PK-1,3). Area luka pada hari ke-11 ditunjukkan dengan tanda panah.

Tahap akhir proses penyembuhan luka kulit pada manusia ditandai dengan re-epitelialisasi dan terbentuknya jaringan baru yang menutup luka. Proses reepitelialisasi ini sedikit berbeda pada mencit akibat adanya lapisan otot lurik subkutan (*panniculus carnosus*) yang luas yang umumnya tidak ditemukan pada kulit manusia. Pada mencit, lapisan otot ini memungkinkan kulit untuk bergerak secara independen dari otot-otot yang lebih dalam dan bertanggung jawab atas kontraksi kulit secara cepat setelah luka (Galiano *et al.*, 2004).

Tabel 1. Penurunan diameter luka pada mencit yang diberi perlakuan peptida kolagen *D. macarellus*. Keterangan : *berbeda nyata dengan kontrol ($p < 0,05$). $n=6$.

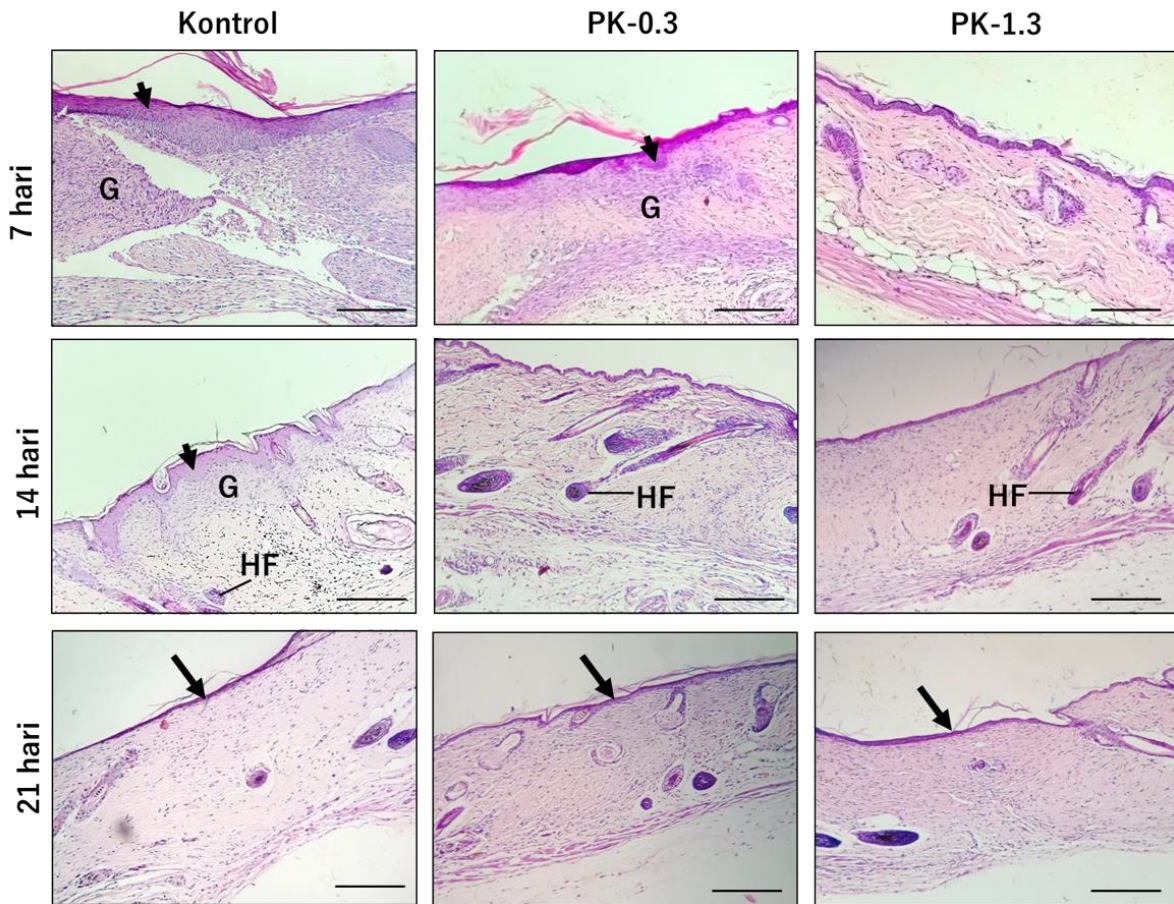
Kelompok	Penurunan Diameter Luka (%)	
	Hari ke-7	Hari ke-11
Kontrol	41 ± 10,693	68,92 ± 11,473
PK-0,3 (0,3 g/kgBB/hari)	43,13 ± 4,211	78,86 ± 4,822
PK-1,3 (1,3 g/kgBB/hari)	45,57 ± 7,327	89,55 ± 10,260*

Perawatan luka dengan peptida kolagen dari ubur-ubur telah dilaporkan memberikan hasil positif dengan jalan meningkatkan kecepatan kontraksi luka dibandingkan kelompok kontrol (Felician *et al.*, 2019). Sejalan dengan penelitian tersebut, perlakuan oral peptida kolagen *D. macarellus* mendukung percepatan penutupan luka 10-20% lebih baik daripada kontrol.

3.3. Regenerasi jaringan kulit pasca luka

Proses regenerasi lapisan dermis dan reepitelialisasi secara umum ditunjukkan melalui pewarnaan HE (Gambar 3). Perlakuan hari ke-7, kelompok kontrol memperlihatkan lapisan neo-epidermis yang masih menebal (anak panah hitam). Jaringan neo-epidermis ini dibentuk dari sel punca epidermis. Saat terjadi luka, keratinosit di lapisan suprabasal akan diaktifkan dan mengalami perubahan morfologi sel, serta kemampuannya bermigrasi menuju area luka (Safferling *et al.*, 2013). Lapisan neo-epidermis ini akan berdiferensiasi menjadi sel epitel pipih selapis. Kelompok perlakuan PK-0,3 dan PK-1,3 menunjukkan lapisan neo-epidermis mulai berdiferensiasi dan tampak lebih tipis merata pada hari ke-7 (Gambar 3).

Jaringan granulasi (huruf G) terbentuk dan diikuti dengan vaskularisasi. Jaringan granulasi yang terbentuk pada hari ke-7 memperlihatkan jumlah pembuluh darah yang lebih banyak pada kelompok perlakuan. Hal ini mengindikasikan bahwa suplementasi peptida kolagen *D. macarellus* dapat merangsang angiogenesis. Pada hari ke-14, tampak bahwa lapisan neo-epidermis pada kelompok PK sudah mengalami diferensiasi sempurna, kontras dengan kelompok kontrol yang epidermisnya masih menebal (anak panah hitam). Gambaran histologis proses regenerasi luka di atas mendukung pengamatan morfologi luka yang menunjukkan bahwa luka sudah menutup 89,5% di hari ke-11 pada kelompok PK 1,3 (Tabel 1). Adapun folikel rambut (huruf F) dan kelenjar-kelenjar yang terbentuk mulai hari ke-14 pada semua kelompok menunjukkan progres regenerasi jaringan kulit yang berjalan dengan baik.



Gambar 3. Perubahan histologis terjadi selama proses penyembuhan luka, dimana area luka ditutup dengan jaringan granulasi (G) dan neo-epidermis (anak panah), yang akhirnya berdiferensiasi menjadi epidermis (panah). Folikel rambut (HF) tampak pada lapisan dermis. Peptida kolagen *D. macarellus* dosis 0,3 g/kgBB/hari (PK-0,3) dan 1,3 g/kgBB/hari (PK-1,3) diberikan selama 21 hari. Skala 400 μm .

Gambaran histologis dari proses penyembuhan luka pada penelitian ini konsisten dengan permulaan fase proliferasi penyembuhan luka (Cañedo-Dorantes & Cañedo-Ayala, 2019). Selama fase proliferasi, faktor pertumbuhan yang utamanya dilepaskan oleh makrofag merangsang proliferasi fibroblas dan sel endotel (membentuk pembuluh darah baru), yang mensintesis, mensekresi, dan berlabuh dalam matriks ekstraseluler yang baru terbentuk yang dikenal sebagai jaringan granulasi.

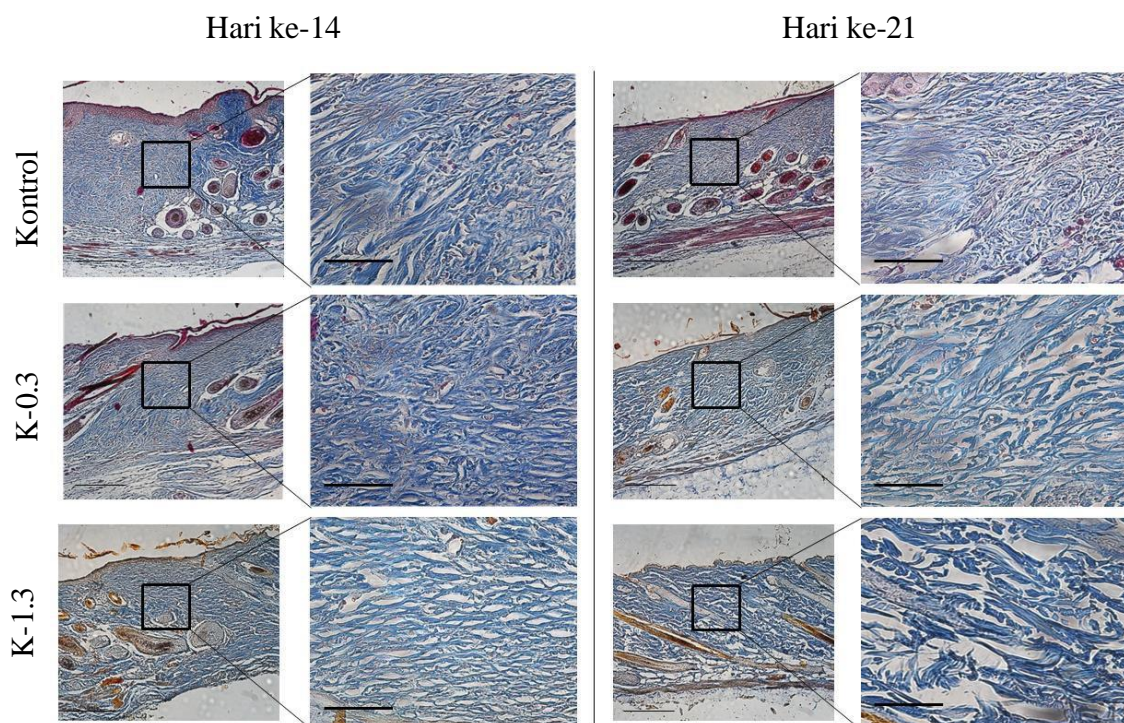
Matriks yang disimpan di area luka mengalami perubahan penting dalam komposisinya selama penyembuhan luka. Dengan penutupan luka, kolagen tipe III secara bertahap terdegradasi, sedangkan sintesis kolagen tipe I meningkat. Akumulasi kolagen tipe I mencapai puncaknya pada sekitar hari ke 10-14, saat kolagen tersebut menyumbang setidaknya 75% dari total kolagen dalam jaringan granulasi (Santos *et al.*, 2021).

3.4. Deposisi dan reorganisasi berkas kolagen pada jaringan kulit

Luka dapat disembuhkan dengan melibatkan fase maturasi pada tahap akhir, dimana jaringan granulasi mengalami maturasi dan menjadi lebih kuat. Fase ini ditandai dengan

terbentuknya kolagen baru yang berperan memperkuat jaringan (Benarjee *et al.*, 2015). Pada penelitian ini, deposisi dan reorganisasi kolagen pasca luka diamati menggunakan irisan membujur kulit dengan pewarnaan *Mallory blue*.

Gambar 4 menunjukkan deposisi berkas kolagen baru yang terbentuk pada area luka yang telah menutup. Area luka pada kelompok kontrol menunjukkan berkas kolagen yang tampak longgar dan terpulas biru muda, sedangkan pada kelompok perlakuan PK-0,3 dan PK-1,3, kolagen terpulas biru tua yang menunjukkan deposisi berkas kolagen yang melimpah (Gambar 4 dan Tabel 2). Berkas kolagen pada kelompok kontrol tersusun parallel/sejajar, hal ini mengindikasikan tahapan awal dalam reorganisasi kolagen baru. Adapun kelompok perlakuan PK-0,3 dan PK-1,3 menunjukkan orientasi berkas kolagen yang tersusun retikuler. Struktur berkas kolagen dengan pola retikuler memungkinkan fleksibilitas dan kelenturan dan hal ini merupakan karakteristik organisasi berkas kolagen yang hampir menyerupai jaringan kulit normal atau jaringan yang sudah sepenuhnya pulih dari luka (Verhaegen *et al.*, 2009).



Gambar 4. Deposisi dan struktur organisasi berkas kolagen selama proses penyembuhan luka. Kolagen terpulas biru. Area yang ditandai dengan inset pada panel gambar kiri ditunjukkan dengan perbesaran $\times 40$ pada panel gambar kanan. Peptida kolagen *D. macarellus* dosis 0,3 g/kgBB/hari (PK-0,3) dan 1,3 g/kgBB/hari (PK-1,3) diberikan selama 21 hari. Skala 400 μm .

Karakteristik bekas luka yang normal dihasilkan dari perubahan struktur dan komposisi matrik ekstraseluler pada lapisan dermis. Selama proses penyembuhan luka, kulit membentuk jaringan parut sementara. Jaringan parut ini secara histologis berbeda dengan jaringan normal terutama pada orientasi matriks fibrosa (Verhaegen *et al.*, 2009). Jaringan normal kulit pada

hewan rodensia memiliki berkas kolagen dengan pola retikuler, sedangkan kolagen dalam jaringan parut sementara terdiri atas berkas kolagen yang tersusun paralel (Xue & Jackson, 2015).

Tabel 2. Deposisi kolagen pada area luka setelah pemberian peptida kolagen *Decapterus* secara oral. Keterangan: *berbeda nyata dengan kontrol ($p < 0,05$). $n=6$.

Kelompok	Deposisi berkas kolagen (%)		
	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
Kontrol	47,83 ± 4,603	46,67 ± 2,354	46,18 ± 2,524
PK-0,3	54,80 ± 0,106	52,05 ± 0,998	58,51 ± 0,417*
PK-1,3	54,25 ± 9,673	53,39 ± 0,226	58,30 ± 2,927*

Deposisi dan organisasi berkas kolagen tampak pada Gambar 4 dan Tabel 2 menggambarkan pemberian peptida kolagen *D. macarellus* secara oral mungkin berperan dalam mempercepat fase maturasi. Hal ini juga didukung dengan morfologis luka yang menutup lebih cepat pada kelompok mencit yang diberi perlakuan peptida kolagen *D. macarellus* (Gambar 2).

Protein promotor penyembuhan luka bekerja dengan meningkatkan deposisi kolagen, meningkatkan kekuatan jaringan, dan membentuk ikatan silang antara serat kolagen (Mathew-Steiner *et.al.*, 2021). Proses ini sangat tergantung pada biosintesis, deposisi, dan maturasi kolagen baru yang terbentuk. Kolagen baru berfungsi untuk menghasilkan kekuatan tarik (*tensile strength*) pada jaringan luka selama proses penyembuhan (Koudouna *et.al.*, 2020). Asupan kolagen yang bersumber dari organisme laut dapat mengakselerasi penyembuhan dan pemulihan luka kulit (Zhang *et.al.*, 2011; Yang *et al.*, 2018; Felician *et.al.*, 2019), meskipun diperlukan lebih banyak penelitian untuk memverifikasi mekanisme kerjanya. Keunggulan kolagen dari *D. macarellus* adalah proses ekstraksi yang mudah, ketersediaan melimpah, serta memiliki biokativitas baik yang sudah diteliti sebelumnya.

Peptida kolagen juga dilaporkan berperan dalam fase proliferasi, yaitu fase ketika luka ditutup dengan jaringan granulasi yang antara lain terdiri atas matriks ekstrasel serta sel fibroblast yang berproliferasi. Sel fibroblast ini berdiferensiasi dari sel punca mesenkimal, ditandai dengan marker p75NTR (p75 neurotrophin receptor). Peptida kolagen dengan kandungan Pro-Hyp merupakan faktor pertumbuhan (*growth factor*) bagi sel fibroblast (positif terhadap p75NTR), dengan demikian, peptida kolagen dapat merangsang proliferasi sel fibroblast pada jaringan granulasi (Sato *et al.*, 2020)

4. Kesimpulan

Peptida kolagen ikan *D. macarellus* yang diberikan secara oral efektif mempercepat penyembuhan luka kulit pada mencit. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa setelah 11 hari perlakuan, area luka menutup lebih cepat, jaringan neo-epidermis telah berdiferensiasi, serta terlihat adanya peningkatan dan maturasi berkas kolagen. Diperlukan kajian lebih lanjut tentang

toksisitas peptida kolagen ikan *D. macarellus* apabila akan diaplikasikan sebagai bahan nutrasetikal.

Ucapan Terimakasih

Penelitian ini didanai oleh Universitas Sebelas Maret melalui Hibah Penelitian Fundamental (No. 254/UN27.22/PT.01.03/2022).

Deklarasi Konflik Kepentingan

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

Daftar Pustaka

- Acevedo, C.A., Sánchez, E., Orellana, N., Morales, P., Olgún, Y., Brown, D.I. dan Enrione, J. (2019). Re-epithelialization Appraisal Of Skin Wound in a Porcine Model Using a Salmon-Gelatin Based Biomaterial as Wound Dressing. *Pharmaceutics*, 11(5): pp.196. 10.3390/pharmaceutics11050196
- Aryati, Y.V.P., Setiawan, I., Ariani, N.R., dan Hastuti, D.D. (2018). Pengaruh Gel Kombinasi Ekstrak Kulit Semangka (*Citrullus lanatus* (Thunb.)) dan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Kelinci. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 3(2): pp. 117-125. 10.20961/jpscr.v3i2.22534
- Association of Official Analytical Chemist. (2005). *Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th Edition*. Arlington: Assoc.Off. Anal. Chem.
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). 2014. *Kolagen Kasar Dari Sisik Ikan-Syarat Mutu dan Pengolahan*: SNI 8076- 2014. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Banerjee, P., Suguna, L., dan Shanthi, C. (2015). Wound Healing Activity of a Collagen-Derived Cryptic Peptide. *Amino acids*, 47(2): pp. 317–328. 10.1007/s00726-014-1860-6
- Cañedo-Dorantes, L. dan Cañedo-Ayala, M. (2019). Skin Acute Wound Healing: A Comprehensive Review. *International Journal of Inflammation*, 3706315. 10.1155/2019/3706315
- El Masry, M.S., Chaffee, S., Das Ghatak, P., Mathew-Steiner, S.S., Das, A., Higueta-Castro, N., Roy, S., Anani, R.A. dan Sen, C.K. (2019). Stabilized Collagen Matrix Dressing Improves Wound Macrophage Function and Epithelialization. *FASEB Journal*, 33(2):2144–2155. 10.1096/fj.201800352R
- Felician, F.F., Yu, R.H., Li, M.Z., Li, C.J., Chem, H.Q., Tiang, Y., Qi, W.Y. dan Xu, H.M. (2019). The Wound Healing Potential Of Collagen Peptides Derived From The Jellyfish *Rhopilema esculentum*. *Chinese Journal of Traumatology*, 22: pp. 12–20. 10.1016/j.cjte.2018.10.004
- Fuentes-Orozco, C., Anaya-Prado, R., González-Ojeda, A., Arenas-Márquez, H., Cabrera-Pivaral, C., Cervantes-Guevara, G., dan Barrera-Zepeda, L.M. (2004). l-Alanyl-l-Glutamine-Supplemented Parenteral Nutrition Improves Infectious Morbidity in Secondary Peritonitis. *Clinical Nutrition*, 1(23): pp. 13–21. 10.1016/S0261-5614(03)00055-4
- Galiano, R. D., Michaels, J., 5th, Dobryansky, M., Levine, J. P., dan Gurtner, G. C. (2004). Quantitative and Reproducible Murine Model Of Excisional Wound Healing. *Wound Repair and Regeneration : Official Publication of the Wound Healing Society and the European Tissue Repair Society*, 12(4): pp. 485–492. 10.1111/j.1067-1927.2004.12404.x
- Gonzalez, A. C., Costa, T. F., Andrade, Z. A., dan Medrado, A. R. (2016). Wound healing - A literature review. *Anais brasileiros de dermatologia*, 91(5), 614–620. 10.1590/abd1806-4841.20164741

- Herawati, E., Titisari, R.S., Husna, S.A.N., Astirin, O.P., Widiyani, T., dan Listyawati, S. (2021). Red Snapper Fish Intake Improves Thyroid Gland Activity in The Hypothyroidism Rat. *Food Research*, 5(2): pp. 18–24. 10.26656/fr.2017.5(S2).007
- Herawati, E., Akhsanitaqwm. Y., Agnesia, P., Listyawati, S., Pangastuti, A., dan Ratriyanto, A. (2022). In Vitro Antioxidant and Antiaging Activities of Collagen And Its Hydrolysate From Mackerel Scad Skin (*Decapterus macarellus*). *Marine Drugs*, 20(8):pp. 516. 10.3390/md20080516
- Koudouna, E., Spurlin, J., Babushkina, A., Quantock, A.J., Jester, J.V., dan Lwigale, P. (2020). Recapitulation of Normal Collagen Architecture in Embryonic Wounded Corneas. *Scientific Reports*, 10(1):pp. 13815. 10.1038/s41598-020-70658-y
- Kristin, H. (2021). Efek Protektif Peptida Kolagen Kulit Ikan Layang Biru (*Decapterus macarellus*) Terhadap Viabilitas Sel Mouse Embyonic Fibroblast (MEFs) Yang Diinduksi UVB . *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret.
- Markets and markets. (2022). *Wound Care Market*. Available from: <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/wound-care-market-371.html>. [Diakses pada 30 Juni 2022]
- Maide, M.I., T.B. Iwan, dan R. Willy. 1975. *Ilmu Penyakit Hewan Bagian III: Teknik Histologi dan Histopatologi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Mathew-Steiner, S.S., Roy, S. dan Sen, C.K. (2021). Collagen in Wound Healing. *Bioengineering*, 8(5):63. 10.3390/bioengineering8050063
- Naomi, R., Bahari, H., Ridzuan, P.M., dan Othman, F. (2021). Natural-Based Biomaterial For Skin Wound Healing (Gelatin vs. Collagen): Expert Review. *Polymers*, 13(14): pp. 2319. 10.3390/polym13142319
- Nuraini, D. (2019). *KKP Bidik Produksi Perikanan Tangkap 8,02 Juta Ton pada 2020*. Available from: <https://ekonomi.bisnis.com/read/20191108/99/1168315/kkp-bidik-produksi-perikanan-tangkap-802-juta-ton-pada-2020> [Diakses pada 10 April 2020].
- Palumpun, E.F., A.A.G.P. Wiraguna, dan W. Pangkabila. (2017). Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*) Secara Topikal Meningkatkan Ketebalan Epidermis, Jumlah Fibroblas, dan Jumlah Kolagen Dalam Proses Penyembuhan Luka Pada Mencit Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal e-Biomedik*. 5(1): 1–7. 10.35790/ebm.v5i1.15037
- Prasasti, F.F.T.A. (2022). Efek Protektif Peptida Kolagen Kulit Ikan Layang Biru (*Decapterus macarellus*) Terhadap Viabilitas Sel Mouse Embyonic Fibroblast (MEFs) Yang Diinduksi Ultraviolet B Secara Kronis. *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret.
- Pratiwi, M.D.A. (2022). Pengaruh Kolagen Ikan Layang Biru (*Decapterus macarellus*) Terhadap Peningkatan Kadar Peptida Dan Struktur Histologis Hewan Uji. *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret.
- Prophet, E.B., B. Mills, J.B. Arrington, dan L.H. Sobin. (1992). *Laboratory Methods in Histotechnology, 4th Edition*. Washington: American Registry of Pathology.
- Safferling, K., Sütterlin, T., Westphal, K., Ernst, C., Breuhahn, K., James, M., Jäger, D., Halama, N., dan Grabe, N. (2013). Wound Healing Revised: A Novel Reepithelialization Mechanism Revealed by In Vitro and In Silico Models. *The Journal of Cell Biology*, 203(4): pp. 691–709. 10.1083/jcb.201212020
- Santos, T. S., Santos, I. D. D. D., Pereira-Filho, R. N., Gomes, S. V. F., Lima-Verde, I. B., Marques, M. N., Cardoso, J. C., Severino, P., Souto, E. B., dan Albuquerque-Júnior, R. L. C. (2021). Histological Evidence of Wound Healing Improvement in Rats Treated With Oral Administration of Hydroalcoholic Extract of *Vitis labrusca*. *Current Issues in Molecular Biology*, 43(1): pp. 335–352. 10.3390/cimb43010028
- Sato, K., Asai, T. T., dan Jimi, S. (2020). Collagen-Derived Di-Peptide, Prolylhydroxyproline (Pro-Hyp): A New Low Molecular Weight Growth-Initiating Factor for Specific Fibroblasts Associated With Wound Healing. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 548975. 10.3389/fcell.2020.548975

- Susanto, Y., Solehah, F.A., dan Khaerati, K. (2023). Potensi Kombinasi Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L.) dan Kapur Sirih Sebagai Antiinflamasi Dan Penyembuhan Luka Sayat. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 8(1): pp. 32-45. 10.20961/jpscr.v8i1.60314
- Verhaegen, P. D., van Zuijlen, P. P., Pennings, N. M., van Marle, J., Niessen, F. B., van der Horst, C. M. dan Middelkoop, E. (2009). Differences in Collagen Architecture Between Keloid, Hypertrophic Scar, Normotrophic Scar, and Normal Skin: An Objective Histopathological Analysis. *Wound Repair and Regeneration : Official Publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 17(5): pp. 649–656. 10.1111/j.1524-475X.2009.00533.x
- Wang, J., Xu, M., Liang, R., Zhao, M., Zhang, Z. dan Li, Y. (2015). Oral Administration of Marine Collagen Peptides Prepared from Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*) Improves Wound Healing Following Cesarean Section in Rats. *Food & Nutrition Research*, 59(1). 10.3402/fnr.v59.26411
- Xue, M., dan Jackson, C. J. (2015). Extracellular Matrix Reorganization During Wound Healing and Its Impact on Abnormal Scarring. *Advances in Wound Care*, 4(3): pp. 119–136. 10.1089/wound.2013.0485
- Yang, T., Zhang, K., Li, B., dan Hou, H. (2018). Effects of Oral Administration of Peptides with Low Molecular Weight from Alaska Pollock (*Theragra chalcogramma*) on Cutaneous Wound Healing. *Journal of Functional Foods*, 48: 682-691. 10.1016/j.jff.2018.08.006
- Zhang, Z., Wang, J., Ding, Y., Dai, X., dan Li, Y. (2011). Oral Administration of Marine Collagen Peptides from Chum Salmon Skin Enhances Cutaneous Wound Healing and Angiogenesis in Rats. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 91(12): pp. 2173–2179. 10.1002/jsfa.4435
- Zhou, T., Wang, N., Xue, Y., Ding, T., Liu, X., Mo, X. dan Sun, J. (2016). Electrospun Tilapia Collagen Nanofibers Accelerating Wound Healing Via Inducing Keratinocytes Proliferation and Differentiation. *Colloids Surfaces Biointerfaces*. 143: pp. 415–2. 10.1016/j.colsurfb.2016.03.052

