

**PENGARUH SERUM EKSTRAK DAUN SUKUN  
(*Artocarpus Altilis*) TERHADAP KADAR  
TNF- $\alpha$  DAN SOD  
(Studi experimental pada marmut yang dipapar sinar UVB)**

**Tesis**



Disusun Oleh :  
**Nani Winarni**  
**MBK.22.19.010291**

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG  
SEMARANG 2023**

TESIS

**PENGARUH SERUM EKSTRAK DAUN SUKUN  
(*Artocarpus Altilis*) TERHADAP KADAR  
TNF- $\alpha$  DAN SOD**

(Studi experimental pada marmut yang dipapar sinar UVB)

disusun oleh:

**Nani Winarni**  
**MBK.22.19.010291**

Menyetujui:

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. dr. Pasid Harlisa, Sp. KK  
NIDN: 0610066601

Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp. KK (K)  
NIDN: 8951110021

Mengetahui,

Ketua Program Studi Megister Ilmu Biomedik  
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung

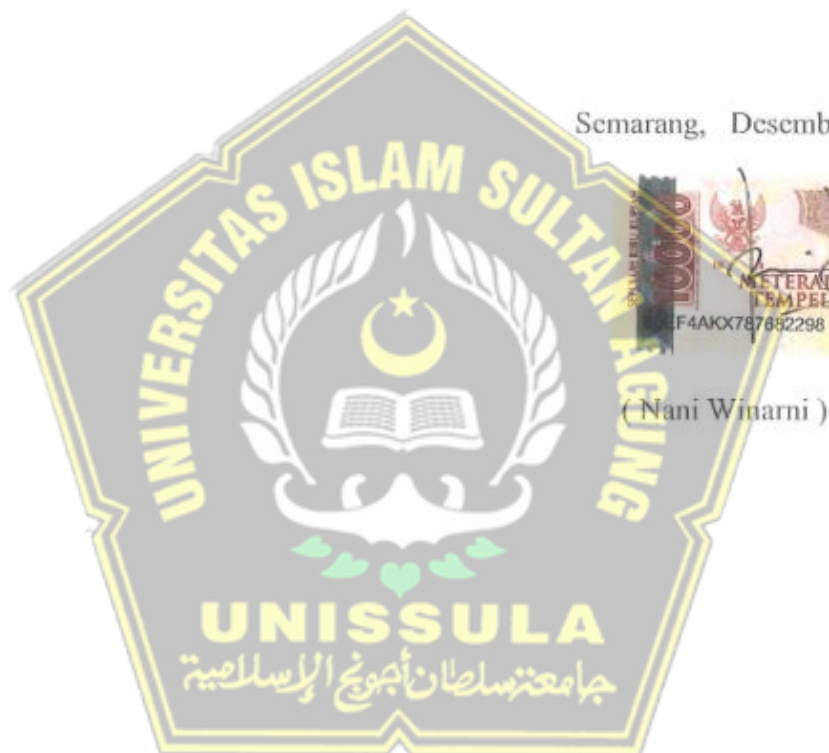


Dr. dr. H. Agung Putra, M.Si.Med  
NIK. 210.199.050

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar megister di suatu perguruan tinggi dan Lembaga Pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan ataupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan Daftar Pustaka.

Semarang, Desember 2023



( Nani Winarni )

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul, **“Pengaruh Pemberian Serum Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus Altilis*) terhadap Kadar TNF- $\alpha$  dan SOD pada Kulit Marmut yang Dipapar Sinar UVB”**. Tesis ini disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Magister Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, penulis ingin mengucapkan terimakasih, yakni kepada yang terhormat:

1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH., M.Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung beserta para wakil rektor yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh dan menyelesaikan Pendidikan Magister Ilmu Biomedik.
2. Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H, Sp.F selaku dekan Fakultas Kedokteran UNISSULA yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti pendidikan di program Magister Ilmu Biomedik.
3. Prof. Dr. dr. H. Agung Putra., M.Si., Med selaku ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang memberi bimbingan masukan penyusun selama penyusunan tesis ini.
4. Dr. dr. Pasid Harlisa, Sp. KK selaku pembimbing I yang telah memberikan banyak waktu bimbingan, dorongan semangat bimbingan serta masukan dalam penyusunan tesis ini.
5. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp. KK (K) selaku pembimbing II yang juga telah meluangkan banyak waktu, memberikan dorongan semangat bimbingan serta masukan selama penyusunan tesis ini.
6. Prof. Dr. dr. H. Agung Putra., M.Si., Med., selaku penguji pertama yang telah memberikan masukan dan saran, serta menyempatkan waktu ditengah kesibukannya saat bimbingan tesis.
7. Dr. dr. Chodidjah, M.Kes., selaku penguji kedua yang telah memberikan masukan dan saran, serta menyempatkan waktu ditengah kesibukannya saat bimbingan tesis.
8. Dr. dr. Adi Muradi Muhar, Sp.B-KBD., selaku penguji ketiga yang telah memberikan masukan dan saran, serta menyempatkan waktu ditengah kesibukannya saat bimbingan tesis.
9. Pada dosen pengajar dan rekan – rekan staf Magister Ilmu Biomedik yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang telah memberikan banyak dukungan selama proses penyusunan tesis.

10. Segenap staff laboratorium IBL FK Unissula atas semua bantuannya dalam penyelesaian penelitian ini.
11. Suami tercinta dan anak-anak yang selalu mendukung selama Pendidikan dan penelitian ini berlangsung.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan-kekurangan dalam penyusunan penelitian ini. Oleh karena itu, masukan dan saran yang membangun dari manapun akan diterima dengan tangan terbuka, harapan penulis semoga penelitian ini bermanfaat bagi penulis pribadi, bagi Program Pendidikan Magister Program Studi Ilmu Biomedik, serta bagi pihak-pihak lain yang berkepentingan secara luas bagi kalangan ilmu di bidang kedokteran.

Akhir kata semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan berkah dan rahmatNya kepada kita semua, aamiin.

Semarang, Desember 2023



(Nani Winarni)

## RIWAYAT HIDUP

### Identitas

1. Nama : Nani Winarni
2. Tempat/Tanggal Lahir : Wonosobo, 9 April 1979
3. Agama : Islam
4. Jenis kelamin : Perempuan

### Riwayat Pendidikan

1. SDN Pangkal Uringan 1 Pondok Gede Bekasi, tamat 1991
2. SMPN Pondok Gede Bekasi, tamat 1994
3. SMAN 5 Bekasi Pondok Gede Kotamadia Bekasi, tamat 1997
4. S1 Fakultas Kedokteran Universitas YARSI, tamat 2006
5. S2 Biomedik FK Unissula, sejak 2022 - sekarang

### Riwayat Pekerjaan

1. Dokter PTT di PKM P. Panggang II Kabupaten OKI, tahun 2006-2007
2. Dokter Praktik Pribadi di Pedamaran 6 Kabupaten OKI, tahun 2007-2009
3. Dokter Praktik Pribadi di Jl. Sahabat Jati Makmur Bekasi, 2009-2013
4. Dokter Praktik di Klinik Tadita K24 Prameswara Palembang, 2014-2016
5. Dokter Praktik di Aufar Clinic Basuki Rahmat Palembang, 2016-sekarang

### Riwayat Keluarga

1. Ayah : H. Maryono Abu Yahya
2. Ibu : Hj. Ressa
3. Suami : dr. Edi Suhaimi, Sp.Ak., Subsp.Ak-AA(K), M.H., C.Med.
4. Anak :
  1. Nailah Ansaria
  2. M. Avicena Alfahmi
  3. Nabilah Syakirah
  4. Nadhira Shafira

## ABSTRAK

**Latar Belakang:** Paparan sinar ultraviolet B (UVB) secara terus menerus dapat meningkatkan jumlah melanin, menyebabkan hiperpigmentasi pada kulit. Proses ini melibatkan peran penting dari *Necrosis Tumor Factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) dan *Superoxide Dismutase* (SOD). Daun sukun (*Artocarpus Altilis*) mengandung flavonoid berpotensi sebagai anti inflamasi, dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  dan meningkatkan SOD yang mempengaruhi proses melanogenesis.

**Tujuan penelitian:** Untuk mengetahui pengaruh pemberian serum ekstrak daun sukun (*Artocarpus Altilis*) terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan SOD pada marmut yang dipapar UVB.

**Metode:** Merupakan penelitian eksperimental *in vivo* dengan *post test only control group design*. Sebanyak 30 ekor marmut jantan dibagi ke dalam 5 kelompok yaitu : Kelompok 1 *sham*, kelompok II kontrol negatif, kelompok 3 perlakuan serum ekstrak daun sukun 2%, kelompok 4 perlakuan serum 4% dan kelompok 5 perlakuan serum 6%. Kemudian dianalisis menggunakan uji One-way ANOVA untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.

**Hasil:** Didapatkan rerata kadar TNF- $\alpha$  terendah pada kelompok P2 (4,958), nilai lainnya P1 (5,820), P3 (5,964), KS (6,069) dan KN (5,811). Sedangkan rerata kadar SOD pada semua kelompok tidak jauh berbeda, P2 (5,802), P1 (5,975), P3 (5,906), KS (6,054) dan KN (6,000). Pada uji One-way ANOVA terhadap TNF- $\alpha$  dan SOD tidak terdapat perberbedaan signifikan,  $p > 0,05$ .

**Kesimpulan:** Pemberian serum ekstrak daun sukun (*Artocarpus Altilis*) terutama 4% menyebabkan penurunan kadar TNF- $\alpha$  tetapi tidak signifikan, dan tidak terjadi peningkatan kadar SOD, pada marmut yang dipapar sinar UVB.

**Kata Kunci:** ekstrak daun sukun (*Artocarpus Altilis*), TNF- $\alpha$ , SOD

## ABSTRACT

**Background:** Continuous exposure to ultraviolet B (UVB) light can increase the amount of melanin, causing hyperpigmentation on the skin. This process involves the important role of Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and Superoxide Dismutase (SOD). *Artocarpus Altilis* contain flavonoids that have anti-inflammatory potential, can reduce TNF- $\alpha$  levels and increase SOD which affects the melanogenesis process.

**Research objective:** To determine the effect of administering *Artocarpus Altilis* extract serum on TNF- $\alpha$  and SOD levels in guinea pigs exposed to UVB.

**Method:** This is an in vivo experimental study with post test only control group design. A total of 30 male guinea pigs were divided into 5 groups, namely: Group 1 sham, group 2 negative control, group 3 treated with 2% *Artocarpus Altilis* extract serum, group 4 treated with 4% serum and group 5 treated with 6% serum. Then analyzed using the One-way ANOVA test to determine differences between groups.

**Results:** The lowest mean TNF- $\alpha$  levels were found in group P2 (4.958), other values were P1 (5.820), P3 (5.964), KS (6.069) and KN (5.811). Meanwhile, the average SOD levels in all groups were not much different, P2 (5.802), P1 (5.975), P3 (5.906), KS (6.054) and KN (6.000). In the One-way ANOVA test on TNF- $\alpha$  and SOD there was no significant difference,  $p > 0.05$

**Conclusion:** Administration *Artocarpus Altilis* extract serum, especially 4%, caused a decrease in TNF- $\alpha$  levels but was not significant, and there was no increase in SOD levels, in guinea pigs exposed to UVB light.

**Keywords:** *Artocarpus Altilis* extract, TNF- $\alpha$ , SOD

## DAFTAR ISI

|                                                          |       |
|----------------------------------------------------------|-------|
| HALAMAN JUDUL .....                                      | i     |
| HALAMAN PENGESAHAN .....                                 | ii    |
| PERNYATAAN .....                                         | iii   |
| KATA PENGANTAR .....                                     | iv    |
| RIWAYAT HIDUP .....                                      | vi    |
| ABSTRAK .....                                            | vii   |
| DAFTAR ISI .....                                         | ix    |
| DAFTAR SINGKATAN .....                                   | xi    |
| DAFTAR GAMBAR .....                                      | xii   |
| DAFTAR TABEL .....                                       | xiii  |
| DAFTAR GRAFIK .....                                      | xiv   |
| <br>BAB I PENDAHULUAN .....                              | <br>1 |
| 1.1. Latar Belakang .....                                | 1     |
| 1.2. Rumusan Masalah .....                               | 3     |
| 1.3. Tujuan Penelitian .....                             | 3     |
| 1.3.1. Tujuan Umum .....                                 | 3     |
| 1.3.2. Tujuan Khusus .....                               | 4     |
| 1.4. Manfaat Penelitian .....                            | 4     |
| 1.5. Originalitas Penelitian .....                       | 5     |
| <br>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....                        | <br>7 |
| 2.1. Anatomi kulit .....                                 | 7     |
| 2.1.1. Lapisan epidermis .....                           | 7     |
| 2.1.2. Lapisan dermis .....                              | 7     |
| 2.1.3. Lapisan hipodermis .....                          | 8     |
| 2.2. <i>Tumor necrosis factor</i> (TNF- $\alpha$ ) ..... | 8     |
| 2.2.1. Definisi TNF- $\alpha$ .....                      | 8     |
| 2.2.2. Aktivasi TNF- $\alpha$ .....                      | 10    |
| 2.3. <i>Superoxide dismutase</i> (SOD) .....             | 12    |
| 2.3.1. Definisi SOD .....                                | 12    |
| 2.3.2. Peran SOD .....                                   | 13    |
| 2.4. Radiasi sinar UV pada kulit .....                   | 16    |
| 2.5. Tanaman sukun .....                                 | 17    |
| 2.5.1. Daun sukun .....                                  | 18    |
| 2.5.2. Ekstraksi daun sukun .....                        | 19    |

|                                                                 |           |
|-----------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.5.3. Ekstraksi serum daun sukun .....                         | 20        |
| 2.6. Hubungan flavonoid dengan TNF- $\alpha$ .....              | 20        |
| 2.7. Hubungan flavonoid dengan kadar SOD.....                   | 22        |
| 2.8. Peran TNF- $\alpha$ dan SOD pada pencerahan kulit .....    | 23        |
| <b>BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS .....</b> | <b>26</b> |
| 3.1. Kerangka Teori .....                                       | 26        |
| 3.2. Kerangka Konsep .....                                      | 28        |
| 3.3. Hipotesis .....                                            | 28        |
| <b>BAB IV METODE PENELITIAN .....</b>                           | <b>29</b> |
| 4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian .....            | 29        |
| 4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional .....         | 30        |
| 4.3. Subyek dan Sampel Penelitian .....                         | 32        |
| 4.4. Instrumen dan Bahan Penelitian .....                       | 34        |
| 4.5. Cara Penelitian .....                                      | 35        |
| 4.6. Tempat dan Waktu Penelitian .....                          | 40        |
| 4.7. Analisis Data .....                                        | 40        |
| 4.8. Alur Penelitian .....                                      | 42        |
| <b>BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....</b>              | <b>43</b> |
| 5.1. Hasil Penelitian .....                                     | 44        |
| 5.2. Pembahasan .....                                           | 51        |
| <b>BAB VI KESIMPULAN .....</b>                                  | <b>56</b> |
| 6.1. Kesimpulan .....                                           | 56        |
| 6.2. Saran .....                                                | 56        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>                                     | <b>57</b> |
| <b>LAMPIRAN PENELITIAN .....</b>                                | <b>63</b> |

## DAFTAR SINGKATAN

|               |                                                             |
|---------------|-------------------------------------------------------------|
| AAM           | : <i>Artocarpus Altilis Extract</i>                         |
| AP1           | : <i>Activator Protein-1</i>                                |
| ATM           | : <i>Ataxia Telangiectasia Mutated</i>                      |
| $\alpha$ -MSH | : <i><math>\alpha</math>-Melanocyte Stimulating Hormone</i> |
| DNA           | : <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>                             |
| ECM           | : <i>Extra Cellular Matrix</i>                              |
| ERK           | : <i>Extracellular Signal-Regulated Kinase</i>              |
| ET-1          | : <i>Endothelin-1</i>                                       |
| GF            | : <i>Growth Factor</i>                                      |
| ICAM-1        | : <i>Intracellular Adhesion Molecule-1</i>                  |
| IL-6          | : <i>Inter Leukin-6</i>                                     |
| IFN- $\gamma$ | : <i>Interferon Gamma</i>                                   |
| Keap-1        | : <i>Kelch ECH Association Protein-1</i>                    |
| KGF           | : <i>Keratinocyte Growht Factor</i>                         |
| MAPK          | : <i>Mitogen Activate Protein Kinase</i>                    |
| MC1R          | : <i>Melanocortin-1 Reseptor</i>                            |
| MITF          | : <i>Microphthalmia Assosiated Transcription Factor</i>     |
| MMP           | : <i>Matriks Metalloproteinase</i>                          |
| MRP           | : <i>Melanogenesis Related Factor</i>                       |
| NF-kB         | : <i>Nuclear Factor Kappa-B</i>                             |
| NRF2          | : <i>Nuclear Erythroid Related Factor-2</i>                 |
| p21           | : <i>Protein 21</i>                                         |
| p53           | : <i>Protein 53</i>                                         |
| PKA           | : <i>Protein Kinase A</i>                                   |
| POMC          | : <i>Promotor Proopiomelanokortin</i>                       |
| ROS           | : <i>Reactive Oxygen Species</i>                            |
| SMAD          | : <i>Small Mother Against Decapentaplegic</i>               |
| SOD           | : <i>Superoksida Dismutase</i>                              |
| TGF- $\beta$  | : <i>Transforming Growht Factor-Beta</i>                    |
| TNF- $\alpha$ | : <i>Tumor Necrosis Factor-alpha</i>                        |
| TNFR1         | : <i>Tumor Necrosis Factor Reseptor-1</i>                   |
| TNFR2         | : <i>Tumor Necrosis Factor Reseptor-2</i>                   |
| TRP-1         | : <i>Tyrosinase Related Protein-1</i>                       |
| TRP-2         | : <i>Tyrosninase Related Protein-2</i>                      |
| UVB           | : <i>Ultra Violet B</i>                                     |

## DAFTAR GAMBAR

|                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gambar 2.1. Skema lapisan kulit .....                                                            | 8  |
| Gambar 2.2. Mekanisme sitokin parakrin mendasari hiperpigmentasi pada<br>Melanosit UVB .....     | 11 |
| Gambar 2.3. Skema pensinyalan/efek ROS dan sistem pertahanan pada kulit ..                       | 15 |
| Gambar 2.4. Daun sukun .....                                                                     | 19 |
| Gambar 2.5. Jalur inflamasi utama yang ditargetkan oleh flavonoid .....                          | 21 |
| Gambar 2.6. Kaskade transduksi sinyal umum skematik dari melanogenesis<br>pada manusia .....     | 25 |
| Gambar 3.1. Skema kerangka teori .....                                                           | 27 |
| Gambar 3.2. Skema kerangka konsep .....                                                          | 28 |
| Gambar 4.1. Alur rancangan penelitian .....                                                      | 30 |
| Gambar 4.2 Alur penelitian .....                                                                 | 42 |
| Gambar 5.1 Histopatologi pengecatan Fontana antar kelompok penelitian<br>sesudah perlakuan ..... | 47 |



## DAFTAR TABEL

|            |                                                                                                         |    |
|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabel 1.1. | Originalitas Penelitian .....                                                                           | 5  |
| Tabel 5.1. | Uji normalitas dan homogenitas Mexameter setelah perlakuan<br>setiap kelompok penelitian .....          | 45 |
| Tabel 5.2. | Perbedaan rerata Mexameter antar kelompok penelitian setelah<br>perlakuan .....                         | 46 |
| Tabel 5.3. | Uji normalitas dan homogenitas kadar TNF- $\alpha$ antar kelompok<br>penelitian setelah perlakuan ..... | 49 |
| Tabel 5.4. | Uji normalitas dan homogenitas kadar SOD antar kelompok<br>penelitian setelah perlakuan .....           | 50 |



## DAFTAR GRAFIK

|            |                                                                                    |    |
|------------|------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Grafik 5.1 | Nilai rerata indeks melanin setelah perlakuan setiap kelompok penelitian .....     | 45 |
| Grafik 5.2 | Nilai rerata kadar TNF- $\alpha$ antar kelompok penelitian setelah Perlakuan ..... | 49 |
| Grafik 5.3 | Nilai rerata kadar SOD antar kelompok penelitian setelah Perlakuan .....           | 50 |



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Faktor lingkungan yang sangat berpengaruh dalam proses penuaan kulit adalah radiasi sinar ultraviolet. Paparan sinar ultraviolet B (UVB) secara terus-menerus dapat menyebabkan perubahan kulit, seperti hiperpigmentasi.<sup>1</sup> Hiperpigmentasi adalah salah satu tanda penuaan pada kulit, yang terjadi akibat peningkatan jumlah melanin.<sup>2-4</sup> Melanogenesis yang memicu terjadinya pigmentasi tidak lepas dari peran *Necrosis Tumor Factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) yang terbentuk akibat inflamasi pada proses penuaan karena paparan sinar matahari. Sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$  memainkan peran penting dalam inflamasi-penuaan yang disebabkan oleh peradangan kronis. Hubungan timbal balik antara sitokin proinflamasi dan penuaan seluler memperburuk penuaan inflamasi.<sup>5</sup>

Hiperpigmentasi juga dipengaruhi oleh peningkatan *Reactive Oksigen Species* (ROS) akibat radiasi sinar UVB, selanjutnya terjadi kerusakan DNA, mengaktifkan p53, dan memicu melanogenesis.<sup>6</sup> Superoksida Dismutase (SOD) merupakan salah satu antioksidan enzimatis, yang berfungsi menangkap radikal bebas ROS.<sup>7</sup> Penelitian yang dilakukan oleh Kim HY, *et al*, 2018, mengungkapkan bahwa SOD menekan produksi ROS yang diinduksi UVB, dan menghambat sintesis melanin pada sel melanosit.<sup>8</sup>

Saat ini, bahan pencerah kulit yang banyak digunakan untuk mengatasi masalah hiperpigmentasi bekerja sebagai *tyrosinase inhibitor*,<sup>9</sup> diantaranya adalah asam askorbat, arbutin, asam kojik, dan hidrokuinon. Krim hidrokuinon 4% sudah

menjadi baku emas untuk pengobatan hiperpigmentasi lebih dari 50 tahun,<sup>10</sup> namun hidrokuinon memiliki efek samping seperti dermatitis alergi atau iritan dan okronosis.<sup>11–13</sup> Oleh karena itu penggunaan hidrokuinon saat ini sudah mulai sangat dibatasi.<sup>6</sup> Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dicari bahan-bahan pencerah kulit lain yang bersifat alami dengan efek samping yang minimal.<sup>10</sup>

Salah satu bahan pencerah kulit alami yang dapat mempengaruhi pigmentasi kulit adalah tanaman sukun, karena tanaman ini menghasilkan senyawa antioksidan.<sup>14</sup> Tanaman sukun merupakan salah satu tanaman yang mudah didapatkan dan secara empiris telah digunakan di masyarakat tertentu di Indonesia sebagai obat tradisional.<sup>10</sup> Daun sukun (*Artocarpus altilis*) mengandung senyawa flavonoid,<sup>15</sup> yang berperan sebagai antioksidan penghambat ROS, anti inflamasi dan menghambat aktivitas enzim tirosinase yang berkhasiat sebagai pencerah kulit.<sup>16</sup> Flavonoid adalah senyawa fenolik alam dari metabolit sekunder yang banyak dijumpai pada tanaman hijau lainnya.<sup>17</sup>

Beberapa penelitian menunjukkan potensi senyawa flavonoid dengan kemampuannya sebagai anti inflamasi mampu menurunkan kadar TNF- $\alpha$  melalui mekanismenya sebagai anti oksidan.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Yang CY *et al.*, 2022 : ekstrak batang kayu *Artocarpus Altilis* mengandung senyawa flavonoid, dapat mengurangi kelebihan produksi ROS intraseluler, mengurangi ekspresi protein inflamasi, termasuk TNF- $\alpha$  dan reseptor TNF-1 (TNFR1).<sup>18</sup>

Studi eksperimental secara *invivo* dan *invitro* yang dilakukan oleh Tiraravesit *et al.*, 2015, melaporkan : ekstrak batang kayu *Artocarpus altilis*

mengandung senyawa flavonoid, secara topikal dapat menekan perubahan struktural pada kulit yang rusak akibat radiasi UVB, terjadi penurunan produksi MMP-1 di fibroblas, serta penurunan produksi TNF- $\alpha$  dan IL-6 dalam keratinosit.<sup>19</sup>

Penelitian oleh Yang *et al.*, 2022, melaporkan : ekstrak *Artocarpus Altilis* topikal berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan aktif anti oksidan untuk mencegah oksidasi kulit, inflamasi dan penuaan, serta mengembalikan fungsi pelindung kulit.<sup>18</sup>

Penggunaan sediaan serum sebagai produk kosmetik pencerah kulit banyak dijumpai, karena serum memiliki kelebihan yaitu zat aktif yang terkandung di dalamnya lebih banyak, daya serap tinggi, dan daya sebar optimal. Serum memiliki partikel kecil, nyaman, serta mudah dalam pengaplikasiannya, sehingga serum lebih cepat dan efektif dalam mengatasi permasalahan kulit.<sup>20</sup>

Maka dalam penelitian ini akan diteliti mengenai pengaruh ekstrak daun sukun (*Artocarpus Altilis*) terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan SOD pada marmut yang dipapar sinar UVB, yang diberikan dalam bentuk sediaan topikal berupa serum.

## 1.2 Rumusan Masalah Penelitian

Adakah pengaruh pemberian serum ekstrak daun sukun (*Artocarpus Altilis*) terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD pada kulit marmut yang dipapar sinar UVB?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian serum ekstrak daun sukun

(*Artocarpus Altilis*) terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD pada kulit marmut yang dipapar sinar UVB.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui pengaruh pemberian serum ekstrak daun sukun (*Artocarpus Altilis*) terhadap kadar TNF- $\alpha$  pada kulit marmut yang dipapar sinar UVB
- b. Untuk mengetahui pengaruh pemberian serum ekstrak daun sukun (*Artocarpus Altilis*) terhadap kadar SOD pada kulit marmut yang dipapar sinar UVB
- c. Untuk mengetahui pengaruh pemberian serum ekstrak daun sukun (*Artocarpus Altilis*) terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

### 1.4 Manfaat Penelitian

- a. Sebagai literasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian serum ekstrak daun sukun (*Artocarpus Altilis*) terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD pada kulit marmut yang dipapar sinar UVB
- b. Pedoman melakukan uji dengan parameter berbeda.

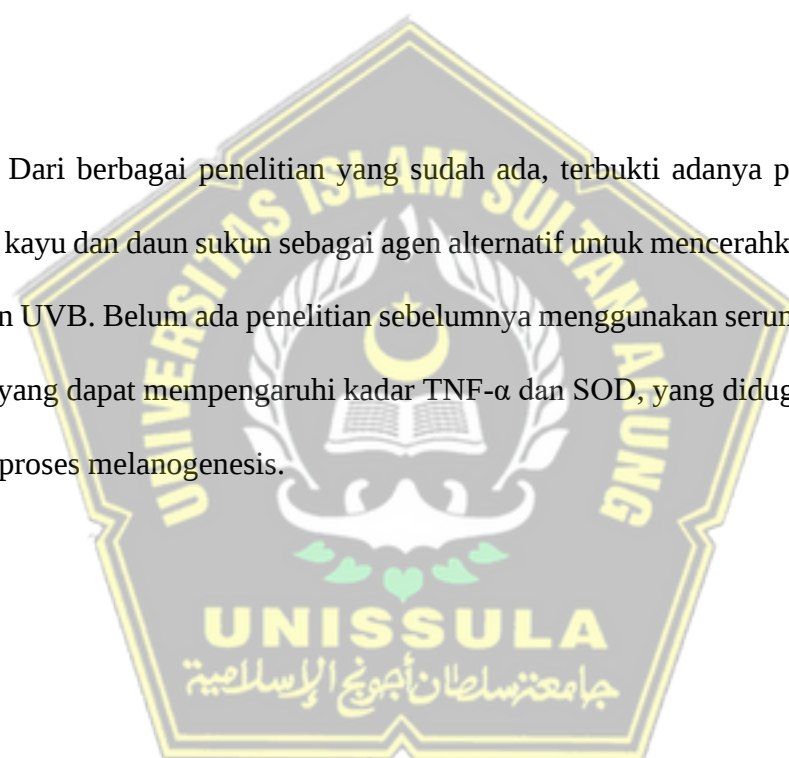
## 1.5 Originalitas Penelitian

**Tabel 1.1** Originalitas Penelitian

| No | Peneliti                                                  | Judul Penelitian                                                                                                                                                                     | Metode                                                                     | Hasil Penelitian                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|----|-----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. | Riliani M, Pangkahi la W, AAGP W. <sup>10</sup>           | Pemberian Krim Ekstrak Daun Sukun ( <i>Artocarpus altilis</i> ) Mencegah Peningkatan Jumlah Melanin Kulit Marmut ( <i>Cavia porcellus</i> ) yang Dipapar Sinar Ultraviolet B (UVB ). | Eksperimental, <i>In Vivo</i> , Metode post test only control group design | Pemberian ekstrak daun sukun 3% ( <i>Artocarpus altilis</i> ) krim mencegah peningkatan melanin kulit pada marmut ( <i>Cavia porcellus</i> ) yang terpapar ultraviolet B. Pemberian krim ekstrak daun sukun ( <i>Artocarpus altilis</i> ) 3% memiliki efek efektivitas yang sama dengan krim <i>hydroquinone</i> 4%. |
| 2. | Tiraravessit N, Yakaew S, Rukchay R, et al. <sup>19</sup> | <i>Artocarpus altilis</i> heartwood extract protects skin against UVB in vitro and in vivo.                                                                                          | <i>In Vitro</i> dan <i>In Vivo</i> . Uji ELISA dan Western blotting        | Ekstrak <i>Artocarpus altilis</i> menekan jalur MAP, kinase (proliferasi) dan pelepasan sitokin perubahan struktural pada kulit yang rusak akibat radiasi UVB. Dimediasi oleh penurunan produksi MMP-1 di fibroblas dan TNF- $\alpha$ dan produksi IL-6 dalam keratinosit.                                           |
| 3. | Yang CY, Pan CC, Tseng CH, Yen FL. <sup>18</sup>          | <i>Antioxidant, Anti-Inflammation and Antiaging Activities of Artocarpus altilis Methanolic Extract on Urban Particulate Matter-Induced HaCaT Keratinocytes Damage.</i>              | Eksperimental, Analisis Western                                            | AAM ( <i>Artocarpus altilis</i> ) berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan aktif antipolusi pada produk kulit topikal untuk mencegah oksidasi kulit, inflamasi dan penuaan, serta mengembalikan fungsi pelindung kulit.                                                                                           |

|   |                                                   |                                                                                                                        |                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|---|---------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4 | Sholikha M, Febriani A, Nirmala SA. <sup>16</sup> | <i>Formulasi Dan Evaluasi Gel Ekstrak Daun Sukun (Artocarpus Altilis) Sebagai Antioksidan Dan Inhibitor Tirosinase</i> | Eksperimental, <i>In Vitro</i> | Ekstrak sukun memiliki nilai IC50 antioksidan 31,25 ppm. Nilai antioksidan gel formula I, II, III berturut-turut sebesar 10%, 13,71% dan 20,48%. Penghambatan tirosinase dengan substrat L-DOPA diperoleh gel formula I, II, III berturut-turut sebesar 40,35%, 39,11% dan 37,21%. |
|---|---------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Dari berbagai penelitian yang sudah ada, terbukti adanya potensi ekstrak batang kayu dan daun sukun sebagai agen alternatif untuk mencerahkan kulit akibat paparan UVB. Belum ada penelitian sebelumnya menggunakan serum ekstrak daun sukun yang dapat mempengaruhi kadar TNF- $\alpha$  dan SOD, yang diduga kuat terlibat dalam proses melanogenesis.



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Anatomi kulit**

Kulit adalah organ tubuh terbesar, berfungsi penting bagi manusia, karena itu kesehatan kulit perlu dijaga. Kulit terdiri dari dua lapisan, epidermis di bagian luar, dan dermis di bagian dalam. Kulit melekat ke jaringan di bawahnya (otot atau tulang) melalui hipodermis, yang merupakan suatu lapisan jaringan ikat longgar.<sup>21</sup> Fungsi kulit sebagai penghalang kimia dan fisik yang melindungi jaringan internal dari bahaya eksternal seperti patogen mematikan, sinar UV dan zat beracun.<sup>22</sup> Kulit juga menghasilkan peptida antimikroba yang mencegah infeksi, hormon, neuropeptida dan sitokin yang memberikan efek biologis, tidak hanya secara lokal pada kulit tetapi juga secara sistemik di seluruh tubuh.<sup>23</sup>

##### **2.1.1. Lapisan epidermis**

Epidermis terbentuk dari lima lapisan sel epitel skuamosa. Sel melanosit terdapat pada lapisan basal. Melanosit mensintesis melanin dan karena itu bertanggung jawab untuk pigmentasi kulit dan perlindungan UV, juga terdapat sel Langerhan yang berkontribusi pada respon imun kulit.<sup>21,22</sup> Ketebalan berkisar 0,5 mm (kelopak mata) hingga 1,5 mm (telapak tangan dan telapak kaki).<sup>23</sup>

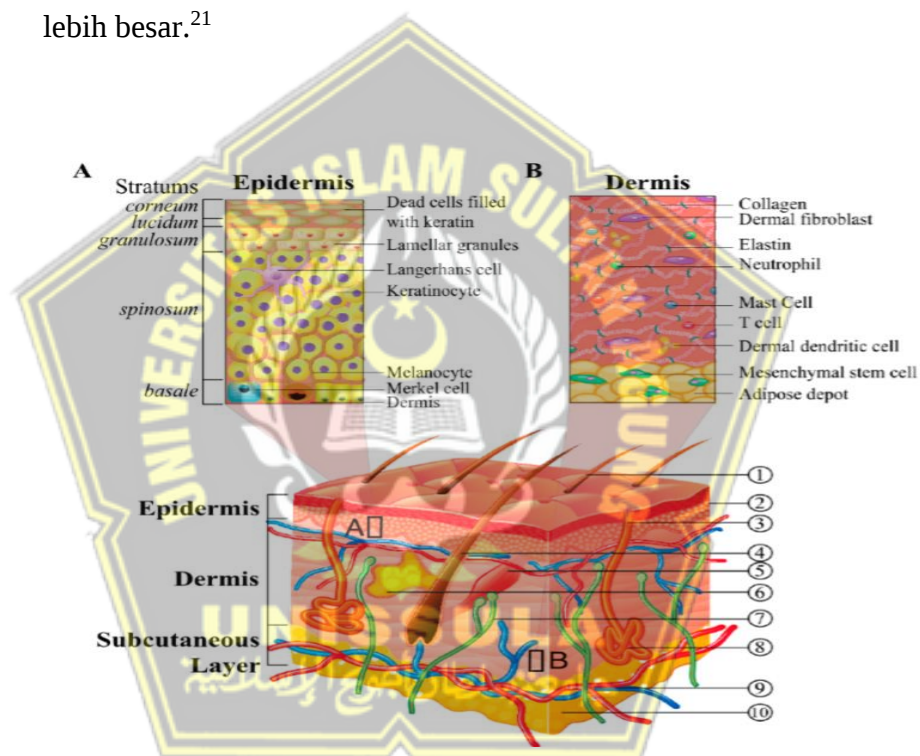
##### **2.1.2. Lapisan dermis**

Di bawah epidermis, lapisan tebal jaringan fibrosa dan elastis, yang disebut dermis, memberikan dukungan struktural dan nutrisi.<sup>23</sup> Dermis

merupakan lapisan jaringan ikat yang mengandung banyak serat elastin (untuk peregangan) dan serat kolagen (untuk kekuatan), serta banyak pembuluh darah dan ujung saraf khusus.<sup>21</sup>

### 2.1.3. Lapisan hipodermis

Lapisan di bawah dermis, yaitu hipodermis, tersusun atas selsel lemak (jaringan adipose), kolagen dan pembuluh-pembuluh darah yang lebih besar.<sup>21</sup>



**Gambar 2.1.** Skema lapisan kulit. Referensi pada gambar menunjukkan: (1) batang rambut; (2) stratum korneum; (3) pori keringat; (4) folikel rambut; (5) otot arrector pili; (6) kelenjar sebaceous; (7) saraf; (8) kelenjar keringat ekrin; (9) pleksus vaskular kulit; (10) depot adiposa. Bagian (A) Dan (B) menyoroti struktur rinci epidermis dan kulit masing-masing.<sup>22</sup>

## 2.2 Tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )

### 2.2.1 Definisi TNF- $\alpha$

Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) adalah sitokin yang memiliki

efek pleiotropik pada berbagai jenis sel. Telah diidentifikasi sebagai pengatur utama respon inflamasi dan diketahui terlibat dalam patogenesis beberapa penyakit inflamasi dan autoimun.<sup>24</sup>

TNF- $\alpha$  adalah protein homotrimer yang terdiri dari 157 asam amino, terutama dihasilkan oleh makrofag aktif, limfosit T, dan sel NK. Secara fungsional diketahui memicu serangkaian berbagai molekul inflamasi, termasuk sitokin dan kemokin lainnya. Secara umum, TNF- $\alpha$  mengikat reseptornya, terutama TNFR1 dan TNFR2, dan kemudian mentransmisikan sinyal molekuler untuk fungsi biologis seperti peradangan dan kematian sel.<sup>24</sup>

Dua jenis TNF- $\alpha$  adalah bentuk terlarut (sTNF- $\alpha$ ) dan bentuk transmembran (tmTNF- $\alpha$ ). TNF- $\alpha$  terutama memengaruhi sel dengan mengikat reseptor TNFR1 (p55) dan TNFR2 (p75), yang kemudian mengirimkan sinyal molekuler untuk berbagai tujuan biologis, termasuk menjadi reseptor yang mengontrol respons imun dan mampu menyebabkan berbagai efek seluler, termasuk apoptosis, nekroptosis, peradangan, efek proliferasi atau merangsang pertumbuhan, dan efek hematopoietik.<sup>24,25</sup>

TNFR1 memicu jalur pensinyalan aktivasi faktor nuklir  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B) dan *mitogen-activated protein kinases* (MAPKs), yang dikenal persinyalan kompleks 1 atau sebagai induksi peradangan, jaringan, kelangsungan hidup dan proliferasi sel, dan pertahanan kekebalan terhadap patogen. TNFR1 sangat penting untuk menginduksi respons TNF- $\alpha$  proinflamasi, sementara

TNFR2 sebagian besar dapat memediasi aktivasi, migrasi, atau proliferasi sel.<sup>24</sup>

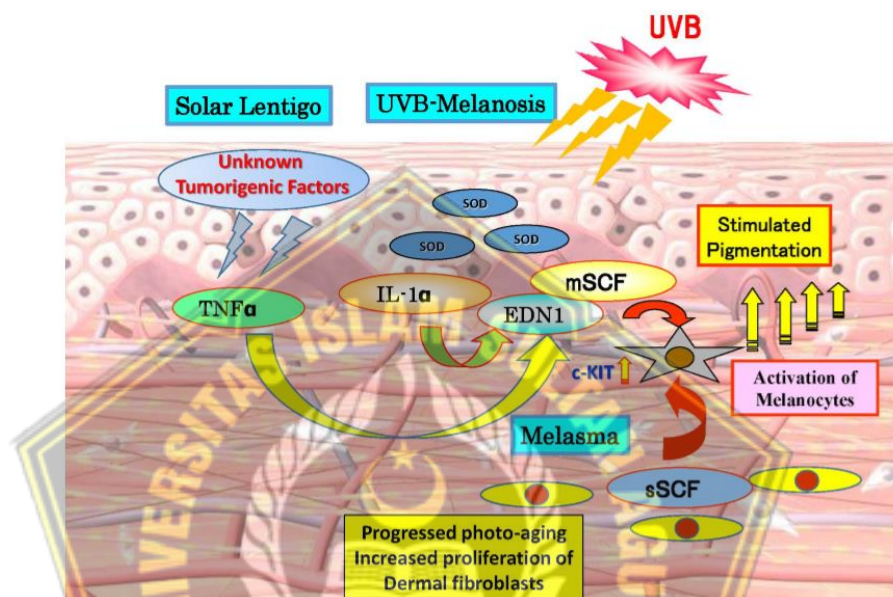
### 2.2.2 Aktivasi TNF- $\alpha$

Sitokin proinflamasi memainkan peran penting dalam inflamasi penuaan yang disebabkan oleh peradangan kronis. Sitokin tipe I seperti TNF- $\alpha$  berpartisipasi dalam proses proinflamasi. Keseimbangan sitokin seperti IL-6 dan TNF- $\alpha$ , memainkan peran yang menentukan dalam penuaan, variasi genetik di daerah promotor gen sitokin proinflamasi dan teregulasi memiliki efek pada peradangan dan kerentanan terhadap penyakit yang berkaitan dengan usia.<sup>5</sup> Sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$  dan IFN- $\gamma$  menginduksi penuaan seluler dalam sel epitel dengan memproduksi ROS dan mengaktifkan jalur pensinyalan ATMP53/P21 (WAF1/Cip1), selanjutnya terjadi kerusakan DNA dan mengaktifkan jalur NF-KB.<sup>5</sup>

Radiasi UV menyebabkan kerusakan langsung pada DNA atau secara tidak langsung dengan memproduksi radikal. Di kulit, keratinosit epidermal adalah sumber utama produksi sitokin dan fibroblas dermal adalah sumber utama MMP, dan telah dibuktikan bahwa kerusakan DNA menyebabkan pelepasan molekul inflamasi dari keratinosit epidermal termasuk TNF- $\alpha$ , dan dari fibroblas dermal memicu peningkatan MMP.<sup>26</sup>

Paparan UVB menyebabkan peningkatan sekresi IL-1 dan TNF- $\alpha$ , akan merangsang tyrosinase melalui kaskade pensinyalan intraseluler spesifik, yang diaktifkan setelah pengikatan endothelin-1 (EDN1) atau

stem cell factor (SCF) terhadap masing-masing reseptor endothelin B (EDNRB) atau reseptor *stem cell growth factor*, yang dikenal sebagai proto-oncogen c-KIT (c-KIT), selanjutnya terjadi aktivasi melanosit menghasilkan stimulasi pigmentasi epidermis.<sup>27</sup>



**Gambar 2.2.** Mekanisme sitokin parakrin mendasari hiperpigmentasi pada melanosis UVB, TNF ; faktor nekrosis tumor; IL-1 : interleukin-1; EDN1 : endotelin-1; mSCF : faktor sel induk yang terikat membran; sSCF : faktor sel punca terlarut.<sup>27</sup>

UVB diserap oleh sel epidermis menyebabkan kerusakan DNA, meningkatkan stres oksidatif, *species oksigen reaktif* (ROS), dan menyebabkan penuaan dini.<sup>28</sup> Stres oksidatif ini dapat meningkatkan produksi ROS, dan dapat memulai peradangan dan aktivasi sitokin pro-inflamasi, seperti interleukin-2 (IL-2), interleukin-6 (IL-6), dan tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), dalam melibatkan banyak jalur termasuk penambah rantai ringan faktor kappa nuklir dari B teraktivasi (NF- $\kappa$ B), faktor yang diinduksi hipoksia 1- $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ), faktor nuklir terkait

eritroid 2 terkait faktor 2 (Nrf- 2), dan protein aktivator 1 (AP-1).<sup>29</sup>

## 2.3 *Superoxide dismutase (SOD)*

### 2.3.1 Definisi SOD

*Superoksida dismutase (SOD)* merupakan salah satu antioksidan enzimatis, dan metaloenzim dalam tubuh, aktivitasnya tergantung pada kofaktor logam Cu, Fe, Zn, dan Mn. SOD adalah metaloenzim yang mengkatalisis reaksi reduksi radikal anion superoksida menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), dan oksigen ( $O_2$ ). Enzim ini bersifat tidak stabil terhadap panas, cukup stabil pada kondisi basa (PH 6,5-7,5), dan masih mempunyai aktivitas walaupun disimpan sampai 5 tahun pada suhu 5°C.<sup>7</sup>

SOD merupakan salah satu antioksidan endogen. Anti oksidan endogen adalah antioksidan yang diproduksi oleh tubuh manusia sebagai penangkal radikal bebas eksogen maupun radikal bebas endogen. Antioksidan enzimatis disebut juga antioksidan sekunder, yaitu antioksidan yang berfungsi menangkap radikal bebas dan menghentikan pembentukan radikal bebas.<sup>7</sup>

SOD merupakan salah satu antioksidan enzim yang terdapat dalam tiga isoform di dalam tubuh yang masing-masing merupakan produk gen yang berbeda, tetapi mengkatalisis reaksi yang sama, yaitu mengubah anion superoksida ( $O_2^-$ ) menjadi hidrogen peroksida dan oksigen. Ketiga isoform SOD tersebut adalah sitosolik atau tembaga-seng SOD (CuZn-SOD atau SOD1), mangan SOD (Mn-SOD atau SOD2) yang terletak

dalam mitokondria, dan suatu ekstraselular dari CuZn-SOD (EC-SOD atau SOD3).<sup>7</sup>

SOD adalah enzim yang sangat terkonservasi, banyak diekspresikan dalam sitoplasma organisme aerob dan berperan penting dalam melindungi sel dari stres oksidatif.<sup>30</sup> SOD merupakan enzim yang mengkatalisis dismutasi radikal superoksida. Radikal ini dihasilkan dalam banyak proses seluler.<sup>31</sup>

Dalam fibroblas, Cu/Zn SOD tampaknya terlokalisasi dalam peroksisom. Menanggapi stres oksidatif, kadar  $H_2O_2$  yang tinggi mendorong translokasi nuklir Cu/Zn SOD dan sebagai faktor transkripsi, enzim mengatur ekspresi resistensi oksidatif dan gen perbaikan.<sup>32</sup>

### 2.3.2 Peran SOD

Kulit manusia merupakan gabungan antara mekanisme pertahanan antioksidan enzimatik dan non enzimatik terhadap ROS. Enzim katalase, glutathion peroksidase, dan superoksida dismutase (SOD) adalah contoh antioksidan enzimatik. Antioksidan yang berfungsi melalui enzim menstabilkan  $H_2O_2$ .  $H_2O_2$  yang kurang reaktif terhadap ROS, dihasilkan oleh enzim *superoksida dismutase*. Pemecahan selanjutnya dari hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen akan terjadi karena katalase dan GSH (Gluthation) peroksidase.<sup>33</sup>

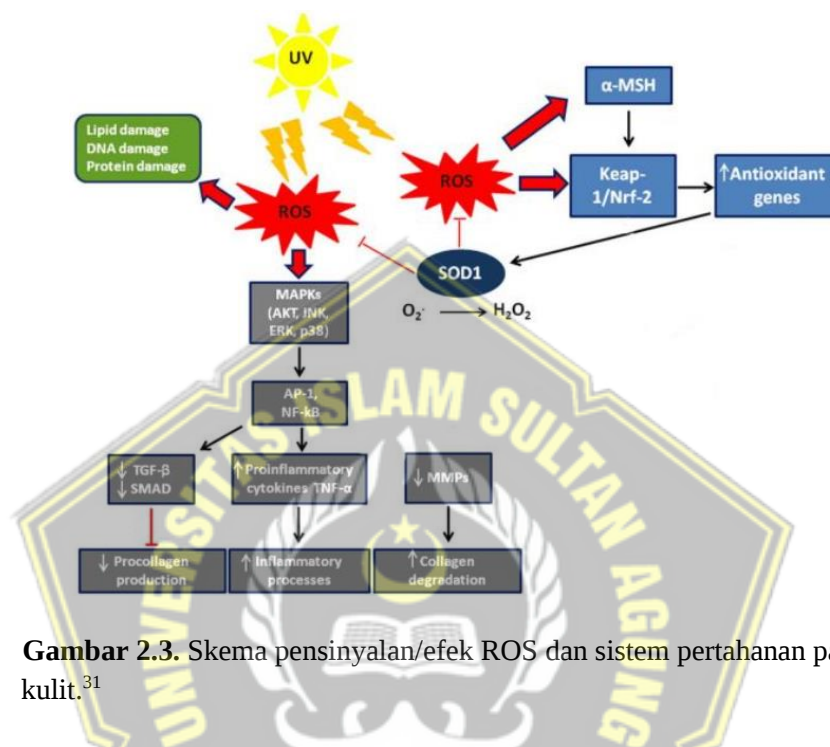
Antioksidan merupakan inhibitor pada proses oksidasi, bahkan pada konsentrasi yang relatif kecil, tubuh memiliki mekanisme pertahanan terhadap pembentukan ROS dengan membentuk antioksidan.<sup>33</sup>

Antioksidan bekerja dengan cara berbeda terhadap proses oksidatif yaitu *scavenging* radikal bebas secara enzimatik atau dengan reaksi kimia langsung, *scavenging* radikal lipid peroksid, berikatan dengan ion logam dan memperbaiki kerusakan oksidatif. Antioksidan berfungsi menarik atau melepaskan elektron untuk menetralkan ROS, sehingga radikal bebas menjadi stabil dan menghambat terjadinya oksidasi.<sup>33</sup>

Pada penerapannya antioksidan terdiri atas antioksidan enzimatik dan nonenzimatik. Antioksidan enzimatik yang terdapat pada kulit yaitu superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathione peroksidase (GSH peroksidase). Sedangkan antioksidan non enzimatik adalah vitamin C (asam askorbat), vitamin E (alfa tokoferol), vitamin A (retinoid) dan ubiquinon.<sup>33</sup>

Agen eksogen dan endogen sel kulit menghasilkan ROS, yang kadarnya berlebihan dapat menyebabkan kerusakan sel. ROS memodulasi jalur pensinyalan MAP yang mengarah ke aktivasi faktor transkripsi AP-1 (protein aktivator-1) dan NF- $\kappa$ B. Mereka juga menginduksi : penurunan sintesis prokolagen melalui pemblokiran pensinyalan TGF- $\beta$ /SMAD; peningkatan proses inflamasi; dan peningkatan degradasi kolagen melalui sintesis MMPs degenerasi matriks. Selanjutnya, ROS memungkinkan faktor nuklir Nrf2 untuk melepaskan diri dari penghambat sitoplasmanya, keap-1, untuk mentranslokasi ke nukleus dan mengaktifkan transkripsi gen antioksidan.  $\alpha$ -MSH juga distimulasi oleh ROS untuk mengaktifkan jalur dependen Nrf2 dan kemudian terjadi peningkatan ekspresi gen

antioksidan. Jalur Nrf2 diaktifkan tidak hanya pada sel kulit yang berbeda seperti keratinosit dan melanosit, tetapi juga pada fibroblas.<sup>31,34</sup>



**Gambar 2.3.** Skema pensinyalan/efek ROS dan sistem pertahanan pada kulit.<sup>31</sup>

Penelitian yang dilakukan oleh Kim HY, *et all*, mengungkapkan bahwa SOD menekan produksi ROS yang diinduksi UVB, secara signifikan menghambat sintesis melanin melalui reseptor endothelin-1 (ET-1)/ endothelin B, protein kinase C, reseptor melanocortin 1 (MC1R)/ protein kinase A, Wnt7a/β-catenin, dan jalur mitogen aktivasi protein kinase, yang dapat menurunkan ekspresi *microphthalmia-associated transcription factor* (MITF), tirosinase, protein tirosinase-1 dan tautomerse dopakrom, yang pada akhirnya mencegah produksi melanin pada sel melanosit.<sup>8</sup>

## 2.4 Radiasi sinar UV pada kulit

Radiasi UV adalah bagian tak terlihat dari spektrum cahaya yang memiliki panjang gelombang antara sinar tampak dan sinar-X. Berdasarkan panjang gelombangnya, sinar UV dibagi menjadi UV-A (320–400 nm), UV-B (280–320 nm) dan UV-C (200–280 nm).<sup>35</sup>

Radiasi ultraviolet dengan sifat penting dari molekul pengion dan menginduksi reaksi kimia membuatnya terpisah dari sinar tampak dan karenanya, bertindak sebagai mutagen lingkungan yang kuat melalui komponen seluler yang merusak, yang menyebabkan penyakit yang dimediasi kekebalan dan secara negatif dapat menyebabkan penyakit fatal seperti kanker.<sup>35</sup>

Respon akut kulit terhadap UVR adalah peradangan, seperti eritema dan edema, serta kerusakan DNA dan mitokondria yang disebabkan oleh ROS. Secara keseluruhan, paparan kronis terhadap UVR menghasilkan peningkatan oksidase nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) dan menghasilkan ROS, yang meningkatkan peradangan, sitokin, kemokin, dan penuaan kulit.<sup>26</sup> Peradangan kronis dan persisten yang disebabkan oleh UVR dapat melemahkan mekanisme pertahanan kulit dan menurunkan serat kolagen dan elastin, dan pada akhirnya menyebabkan penuaan dini.<sup>26</sup>

Iradiasi UVB menginduksi sitokin pro-inflamasi termasuk interleukin-1 (IL-1) dan *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) di kulit. TNF- $\alpha$  merangsang kemotaksis sel inflamasi pada kulit. Sel-sel ini mengeluarkan metaloproteinase (MMPs) dan enzim lain yang merusak matriks kulit.<sup>36</sup>

Radiasi UV memicu meningkatkan ROS menyebabkan peningkatan sitokin inflamasi, *Growht Factor* dan reseptor aktivator (peningkatan NF- $\kappa$ B dan AP1, penurunan TGF- $\beta$ ), sehingga terjadi penurunan produksi kolagen, peningkatan kerusakan kolagen, peningkatan akumulasi elastin yang ditandai sebagai photoaging, solar elastosis, wrinkel, telangiektasis dan pigmentasi.<sup>33</sup>

Iradiasi UVB menyebabkan defek fungsional pada imunitas yang diperantarai sel melalui perubahan profil sitokin inflamasi epidermal, penekanan fagositosis dan meningkatkan produksi ROS oleh keratinosit, penurunan presentasi antigen oleh sel Langerhans, induksi penipisan limfosit dini dan sel T akhir. Proliferasi, Selanjutnya, paparan UVB pada kulit menyebabkan peningkatan generasi ROS yang dapat merusak DNA dan memulai apoptosis, cedera sel dan melanogenesis.<sup>35</sup>

## 2.5 Tanaman sukun

Tumbuhan yang termasuk dalam genus *Artocarpus* dalam famili *Moraceae*, sukun (*Artocarpus altilis*) tersebar luas di daerah tropis seperti Malaysia dan Indonesia.<sup>37</sup> Masyarakat di pulau Jawa memanfaatkan tanaman ini untuk pertanian.<sup>38</sup>

Tanaman sukun mempunyai sistematika sebagai berikut:

*Kingdom* : *Plantae*  
*Divisio* : *Magnoliophyta*  
*Class* : *Magnoliopsida*  
*Ordo* : *Urticales*

*Familia* : *Moraceae*  
*Genus* : *Artocarpus*  
*Spesies* : *Artocarpus communis*

Tumbuhan yang berkerabat dengan sukun antara lain Mentawa, Kluwih, Pintau, Cempedak, Selangking, Benda, Nangka, Monkey Jack, Klempatak, Tampang, dan Betoh. Pohon dari tanaman sukun dapat tumbuh hingga setinggi 30 meter, namun biasanya tingginya hanya mencapai 12 hingga 15 meter. Beberapa tanaman juga mengandung getah yang mudah mengalir.<sup>38</sup>

Pohon sukun merupakan salah satu tanaman yang mudah didapatkan dan secara empiris telah digunakan di masyarakat tertentu di Indonesia sebagai obat tradisional. Ekstrak tumbuhan sukun memainkan peran penting dalam kosmetik, antioksidan, antiinflamasi, antityrosinase dan antiaging. Penelitian Luangpraditkun, *et al* tahun 2016, *Artocarpus altilis* telah digunakan sebagai obat tradisional untuk penuaan kulit. Ekstrak dietil eter dari batang pohonnya mengandung artocarpin sebagai senyawa utama. Artocarpin menunjukkan banyak aktivitas biologis yang berguna untuk *cosmeceutical*.<sup>39</sup>

### 2.5.1 Daun sukun (*Folium*)

Secara umum, daun memiliki belahan simetris dan urat daun menyirip dan dapat soliter, bergantian, lonjong, atau panjang. Dengan tepian daun bercabang dan ujung meruncing. Permukaan atas daun licin dan berwarna hijau mengkilap, sedangkan bagian bawah kasar, berbulu, dan berwarna kusam. Panjang daun antara 50 dan 70 cm dan lebar 25

hingga 50 cm dan tebal.<sup>40</sup>



**Gambar 2.4.** Daun sukun

Salah satu antioksidan alami yang ditemukan pada tanaman daun sukun adalah bahan kimia flavonoid, yang berfungsi sebagai pertahanan terhadap jamur dan radiasi UV yang dapat merusak tumbuhan. Flavonoid dan fenolat merupakan salah satu komponen dalam daun sukun, memiliki kemampuan berperan sebagai antioksidan alami dan memerangi radikal bebas, juga menghambat enzim tyrosinase.<sup>40</sup>

#### 2.5.2 Ekstraksi Daun sukun

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai.<sup>41</sup> Semakin lama waktu maserasi maka kadar flavonoid terekstrak semakin banyak. Hal ini dikarenakan kontak antara bahan dan pelarut bertambah lama sehingga kemampuan pelarut untuk mengambil flavonoid dalam bahan semakin optimal. Rendemen ekstrak semakin meningkat sampai konsentrasi etanol 70 % dan rendemen ekstrak yang diperoleh menurun pada konsentrasi etanol 80% dan 90%. Semakin meningkat kelarutannya

hingga konsentrasi etanol 70% dan mengalami penurunan setelah konsentrasi etanol 70%. Pelarut etanol 70 % merupakan pelarut yang cocok untuk melarutkan senyawa flavonoid.<sup>42</sup>

### 2.5.3 Ekstraksi Serum Daun sukun

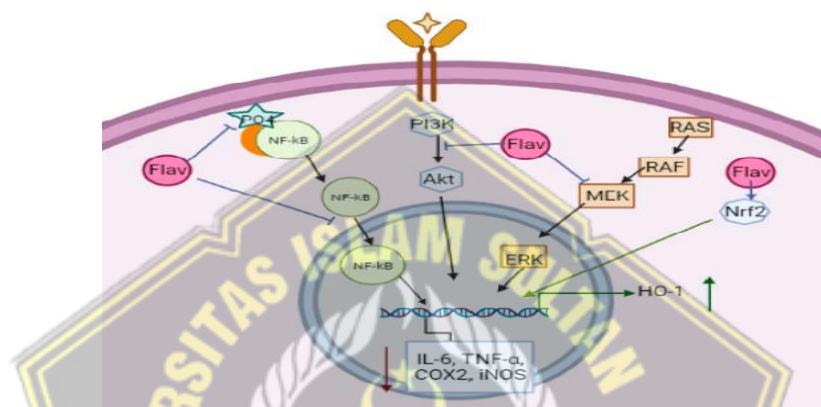
Serum adalah sediaan yang mengandung bahan aktif konsentrasi tinggi, dapat meresap lebih dalam ke kulit untuk menghantarkan bahan aktif viskositas yang rendah dan menghasilkan lapisan tipis pada permukaan kulit.<sup>20</sup>

## 2.6 Hubungan Flavonoid dengan kadar TNF- $\alpha$

Flavonoid adalah antioksidan eksogen, berfungsi mengurangi spesies reaktif dengan menghambat sintase nitrat oksida (NO), sintase xanthine oksida, atau mengatur saluran ion. Memodulasi enzim yang terlibat dalam mekanisme oksidatif.<sup>43</sup> Selain itu, flavonoid mengurangi oksidasi low-density lipoprotein (LDL) oleh peroksininitrit yang dihasilkan oleh interaksi ion NO dan superoksida yang diinduksi oleh makrofag aktif.<sup>44</sup> Apigenin juga diamati untuk mengurangi penanda stres oksidatif seperti glutathion peroksidase, malondialdehida, dan superoksida dismutase dan aktivasi caspase-3 juga diturunkan.<sup>45</sup>

Flavonoid dengan sifat anti-inflamasi dapat berinteraksi dengan banyak molekul yang terlibat dalam jalur inflamasi dan menurunkan aktivitas sitokin, kemokin dan juga enzim inflamasi.<sup>44</sup> Dalam flavonoid, apigenin terbukti menurunkan tingkat mRNA yang diinduksi oleh TNF- $\alpha$  dan dengan demikian menurunkan ekspresi molekul adhesi antar sel-1 (ICAM-1), E-selektin, dan

molekul adhesi sel vaskular-1 (VCAM-1) pada sel endotel. Juga diamati bahwa sel-sel yang diberi perlakuan sebelumnya dengan apigenin menunjukkan penghambatan yang diinduksi oleh TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, dan juga prostaglandin E2.<sup>44</sup>



**Gambar 2.5.** Jalur inflamasi utama yang ditargetkan oleh flavonoid.<sup>44</sup>

Aktivitas molekuler flavonoid termasuk penghambatan faktor transkripsi seperti NF- $\kappa$ B dan mengaktifkan protein-1 (AP-1), serta aktivasi faktor nuklir eritroid 2 terkait faktor 2 (Nrf2).<sup>46</sup> Flavonoid menghambat kinase terminal c-Jun N dan kinase yang diatur sinyal ekstraseluler, sehingga menghambat aktivitas MAPK dan AP-1 dan NF $\kappa$ B. Katekin juga menghambat MAPK, AP-1, dan NF- $\kappa$ B dengan menghambat c-Jun N terminal kinase dan p38 kinase.<sup>46</sup>

Sebagian besar flavonoid menargetkan jalur NF- $\kappa$ B, MAPK, ERK, dan Akt untuk mengurangi peradangan dan stres oksidatif. Flavonoid mampu mereduksi sitokin inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$ , IL-17, dan IFN-

$\gamma$ . Mereka juga efisien dalam mereduksi enzim seperti iNOS, COX2, glukuronidase, dan lisozim. Mereka bertindak pada apoptosis dan kelangsungan hidup sel, yang mengarah ke peningkatan jalur Nrf2 dan AMPK dan enzim antioksidan seperti glutathione-S-transferase (GST), Heme-oxygenase-1, SOD, dan CAT. Ini memainkan peran penting dalam mengurangi penyakit terkait peradangan.<sup>44</sup>

## 2.7 Hubungan Flavonoid dengan kadar SOD

Spesies oksigen reaktif (ROS) diproduksi dalam tubuh manusia terutama sebagai produk sampingan dari rantai transpor elektron. Mereka sangat penting untuk fosforilasi protein, inisiasi berbagai faktor transkripsi, apoptosis, imunitas, dan proses diferensiasi. Namun, ROS juga menyebabkan stres oksidatif saat bereaksi dengan molekul seperti lipid, protein, atau asam nukleat. Peroksidasi lipid oleh ROS menyebabkan kerusakan membran sel. Membran ini memiliki potensial, dengan muatan positif di luar sel, dan muatan negatif di dalam sel. Kerusakan membran mengubah potensial membran sel dan tekanan osmotik sel, akhirnya menyebabkan kematian sel dan fotoaging.<sup>43</sup>

Flavonoid berperan sebagai antioksidan eksogen dan langsung dioksidasi oleh radikal membentuk spesies yang kurang reaktif melalui empat mekanisme, yaitu (1) penghambatan aktivitas sintase nitrat oksida, (2) penghambatan aktivitas xantin oksidase, (3) modulasi jalur jalur, atau dengan (4) berinteraksi dengan sistem enzim lain.<sup>43</sup>

Flavonoid mengaktifkan jalur antioksidan yang memberikan efek anti-

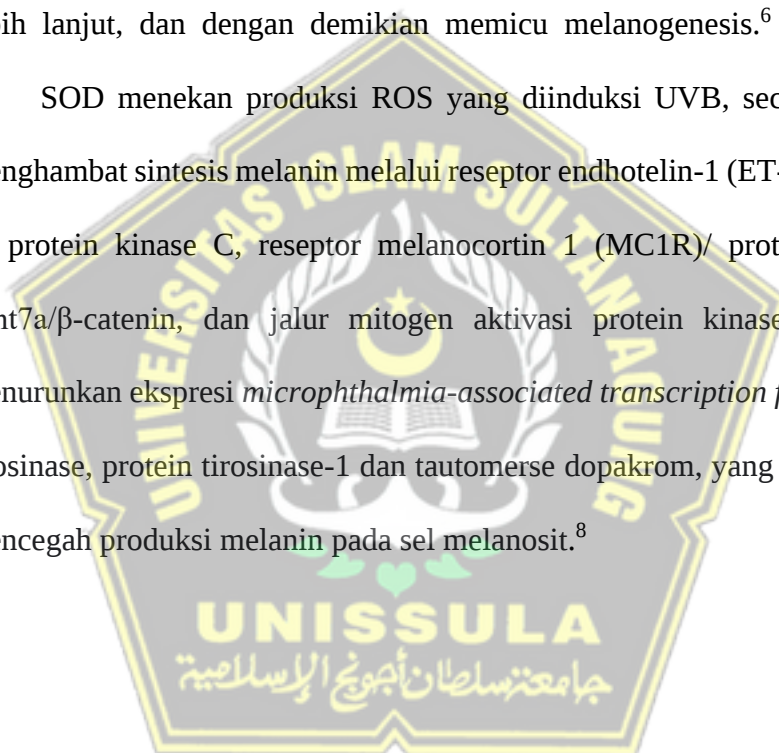
inflamasi. Mereka menghambat sekresi enzim seperti lisozim dan  $\beta$ -glukuronidase dan menghambat sekresi asam arakidonat, yang mengurangi reaksi inflamasi. Flavonoid seperti quercetin, genistein, apigenin, kaempferol, dan epigallocatechin 3-gallate memodulasi ekspresi dan aktivasi sitokin seperti interleukin-1 $\beta$ , Tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-6 (IL-6), dan interleukin-8 (IL-8); mengatur ekspresi gen dari banyak molekul pro-inflamasi seperti faktor nuklir kappa-penambah rantai cahaya sel B teraktivasi (NF- $\kappa$ B), protein aktivator-1 (AP-1), molekul adhesi antar sel-1 (ICAM), sel vaskular molekul adhesi-1 (VCAM), dan E-selektin; dan juga menghambat inducible nitric oxide (NO) synthase, cyclooxygenase-2, dan lipoxygenase, yang merupakan enzim pro-inflamasi.<sup>44</sup>

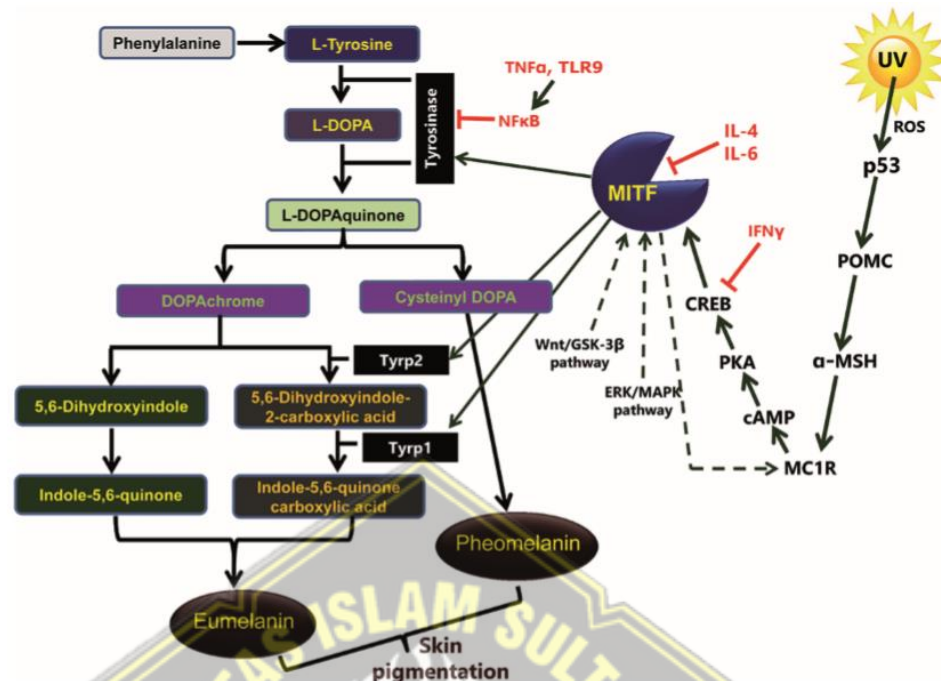
## **2.8 Peran TNF- $\alpha$ dan SOD pada pencerahan kulit**

Kulit tersusun dari beberapa layer termasuk stratum corneum, epidermis dan dermis, keinginan alami untuk tampil cantik, terutama pada wanita yang kini lebih sadar akan pentingnya perawatan kulit dan warnanya. Paparan sinar matahari adalah faktor utama yang menyebabkan kulit menjadi lebih gelap. Penggunaan produk kimia digunakan untuk mengurangi hiperpigmentasi kulit dengan berbagai mekanisme, termasuk menurunkan jumlah melanin, yang dikenal sebagai agen pencerah kulit. Saat ini mencerahkan kulit adalah salah satu prosedur paling umum untuk menghambat pigmentasi pada kulit. Agen pencerah kulit ini telah banyak menjadi perhatian di bidang kosmetik untuk dikembangkan oleh para peneliti dan industri farmasi.<sup>47</sup>

Radiasi ultraviolet menginduksi melanogenesis melalui p53 memicu peningkatan ekspresi *proopiomelanocortin* (POMC) untuk mensekresikan  $\alpha$ -MSH yang mengatur ekspresi MITF, selanjutnya memicu enzim tyrosinase, Tyrp1 dan Tyrp2. Selain itu, radiasi UV meningkatkan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) dalam sel keratin dan melanosit, dan pada konsentrasi tinggi ROS menyebabkan kerusakan DNA, mengaktifkan p53 lebih lanjut, dan dengan demikian memicu melanogenesis.<sup>6</sup>

SOD menekan produksi ROS yang diinduksi UVB, secara signifikan menghambat sintesis melanin melalui reseptor endothelin-1 (ET-1)/ endothelin B, protein kinase C, reseptor melanocortin 1 (MC1R)/ protein kinase A, Wnt7a/ $\beta$ -catenin, dan jalur mitogen aktivasi protein kinase, yang dapat menurunkan ekspresi *microphthalmia-associated transcription factor* (MITF), tyrosinase, protein tyrosinase-1 dan tautomerse dopakrom, yang pada akhirnya mencegah produksi melanin pada sel melanosit.<sup>8</sup>





**Gambar 2.6.** Kaskade transduksi sinyal umum askematik dari melanogenesis pada manusia.<sup>6</sup>

Efek *whitening* dapat dicapai dengan mengganggu selama proses sintesis melanin. Karena tirosin adalah enzim yang sangat penting dalam proses melanogenesis, dan memainkan peran kunci dalam proses ini, maka menjadi target dalam pemutihan kulit. Selain itu juga dapat terjadi dengan memodulasi MC1R, menghambat ROS, penghambatan transfer melanosom atau dengan meningkatkan penyebaran melanin.<sup>47</sup>

### BAB III

## KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS PENELITIAN

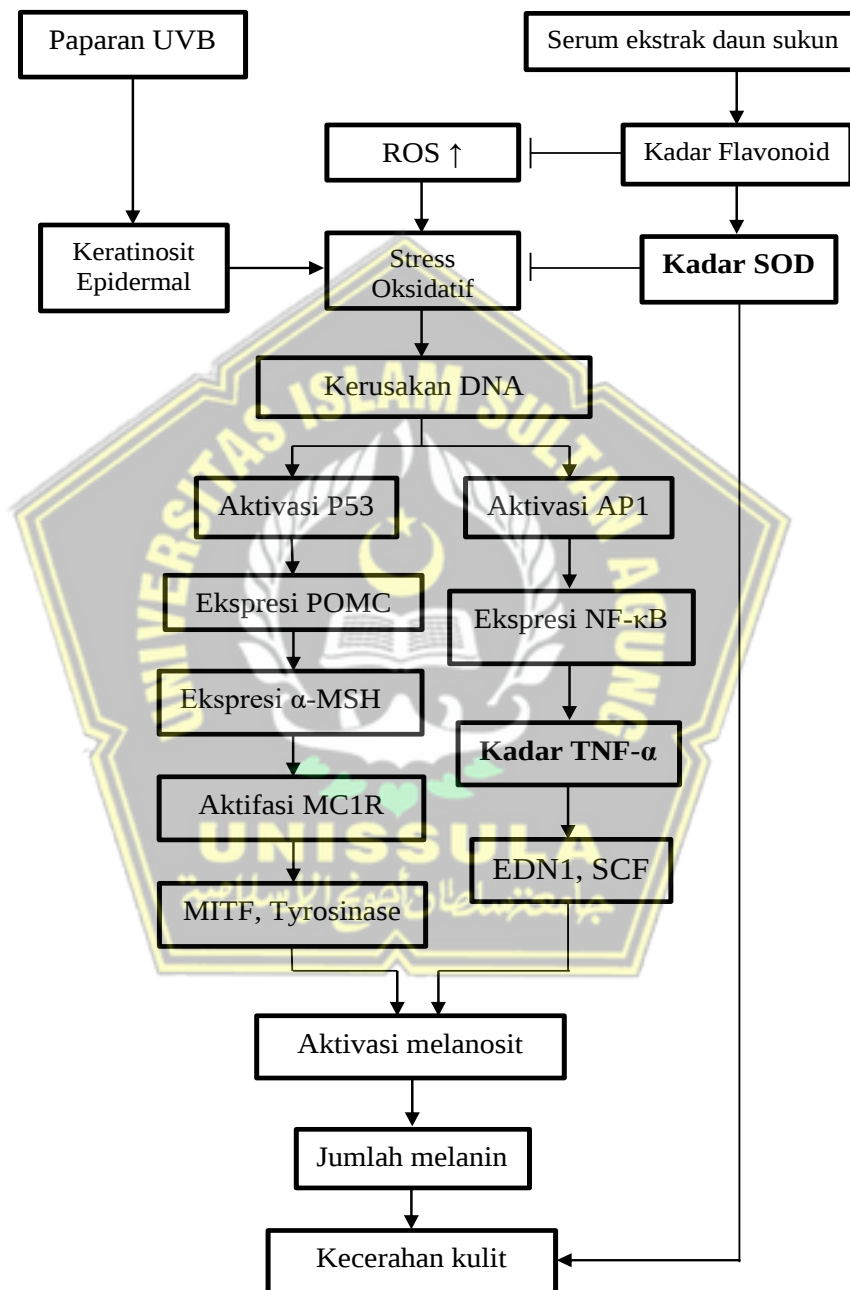
### 3.1 Kerangka teori

Radiasi UVB menyebabkan kerusakan DNA dengan memproduksi ROS oksidatif, mengaktivasi beberapa jalur sintesis melanin, inaktivasi jalur sintesis kolagen dan proses inflamasi.<sup>48</sup> Peningkatan ROS menyebabkan pelepasan MMP yang memecah protein matriks ekstraseluler (ECM) seperti kolagen, fibronectin, elastin, dan proteoglikan, yang semuanya berkontribusi terhadap photoaging.<sup>49</sup> Peningkatan spesies oksigen reaktif (ROS) mempercepat penuaan kulit dengan meningkatkan proliferasi melanosit dan sintesis melanin.<sup>50</sup> TNF- $\alpha$  adalah suatu sitokin yang memiliki peran penting dalam pembentukan melanin melalui jalur NF-KB.<sup>17</sup>

Enzim antioksidan yang sangat penting dalam menekan tingkat ROS seperti *Superoksida dismutase ekstraseluler* (SOD), merupakan salah satu faktor terpenting dalam mengurangi produksi melanin akibat radiasi matahari.<sup>8</sup> Daun sukun mengandung senyawa flavonoid memiliki potensial dalam menghambat tirosinase, yaitu polifenol yang dapat mencerahkan kulit. Flavonoid adalah salah satu dari polifenol memiliki peran besar dalam aktifitas penghambat tirosinase.<sup>10</sup> Flavonoid adalah senyawa fenolik alam dari metabolit sekunder yang dijumpai pada tanaman hijau, berpotensi menjadi sebagai penghambat tirosinase. Tirosinase merupakan enzim yang berperan dalam proses pembentukan melanin (zat warna kulit). Sintesis melanin yang berlebihan dapat memberikan dampak yang kurang

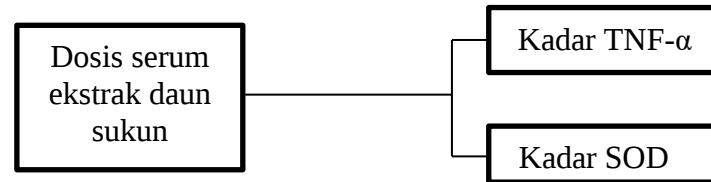
disukai dimana kulit menjadi gelap.<sup>17</sup>

Dari mekanisme diatas, dapat disusun kerangka teori sebagai berikut:



**Gambar 3.1.** Skema kerangka teori

### 3.2 Kerangka konsep



**Gambar 3.2.** Skema kerangka konsep

### 3.3 Hipotesis

- Terdapat pengaruh pemberian serum ekstrak daun sukun (*Artocarpus Altilis*) terhadap kadar TNF- $\alpha$  pada kulit marmut yang dipapar sinar UVB.
- Terdapat pengaruh pemberian serum ekstrak daun sukun (*Artocarpus Altilis*) terhadap kadar SOD pada kulit marmut yang dipapar sinar UVB.
- Terdapat pengaruh pemberian serum ekstrak daun sukun (*Artocarpus Altilis*) terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan kadar SOD antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

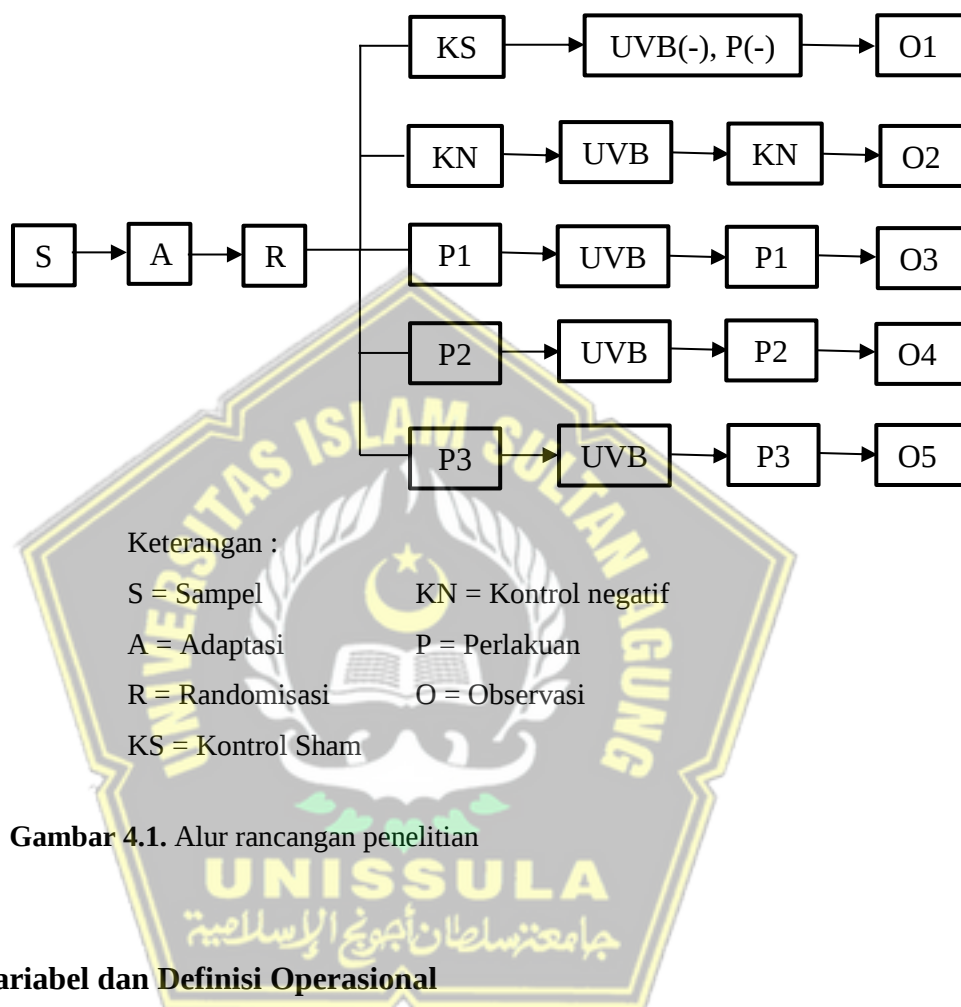
## BAB IV METEDOLOGI PENELITIAN

### 4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental *in vivo* dengan rancangan *post test only control group design* yang menggunakan hewan coba marmut (*Cavia porcellus*) jantan sebagai subjek penelitian, dengan berat badan antara 300-350 gram. Validasi dengan pemeriksaan Mexameter pada hari ke-29 sebelum dilakukan terminasi, dan pemeriksaan Histopatologi. Perlakuan pada penelitian ini terdiri dari :

- a. Kontrol *Sham* (marmut sehat, yang tidak dipapar UVB dan tidak diberi perlakuan).
- b. Kontrol Negatif (marmut dipapar sinar UVB dosis 65 mJ/cm<sup>2</sup> selama 130 detik, 3x perminggu selama 28 hari, dan diberi perlakuan *base serum*).
- c. Perlakuan 1 (marmut di aplikasikan serum ekstrak daun sukun 2% 20 menit sebelum dipapar sinar UVB dosis 65 mJ/cm<sup>2</sup> selama 130 detik, setelah 4 jam paparan aplikasikan kembali serum ekstrak daun sukun 2%, perlakuan 3x perminggu selama kurun 28 hari).
- d. Perlakuan 2 (Marmut di aplikasikan serum ekstrak daun sukun 4% 20 menit sebelum dipapar sinar UVB dosis 65 mJ/cm<sup>2</sup> selama 130 detik, setelah 4 jam paparan aplikasikan kembali serum ekstrak daun sukun 4%, perlakuan 3x perminggu selama kurun 28 hari).
- e. Perlakuan 3 (Marmut di aplikasikan serum ekstrak daun sukun 6% 20 menit sebelum dipapar sinar UVB dosis 65 mJ/cm<sup>2</sup> selama 130 detik, setelah 4

jam paparan aplikasikan kembali serum ekstrak daun sukun 6%, perlakuan 3x perminggu selama kurun 28 hari).



**Gambar 4.1.** Alur rancangan penelitian

## 4.2. Variabel dan Definisi Operasional

### 4.2.1. Variabel Penelitian

#### a. Variabel Bebas

Sebagai variabel bebas dalam penelitian ini adalah serum ekstrak daun sukun dengan dosis 2%, 4%, dan 6%.

#### b. Variabel Terikat

Sebagai variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar  $\text{TNF-}\alpha$  dan kadar SOD

#### 4.2.2. Definisi Operasional

##### a. Serum ekstrak daun sukun

Serum ekstrak daun sukun diperoleh dengan cara maserasi. Metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Hasil maserasi disaring kemudian diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator*, sehingga dapat ekstrak kental yang bebas dari pelarut. Ekstrak yang dihasilkan selanjutnya dibuat dalam tiga formulasi 2%, 4% dan 6%, dengan menambahkan bahan tambahan yang terdiri dari : *carbomer*, *triethanolamin* dan *glyserin*. Ditambahkan bahan-bahan lain seperti : *sodium benzoate*, *sodium EDTA* sebagai pengikat dan *aquades* sebagai pembawa. Dalam formulasi fase minyak yang dipilih yaitu *carbomer*, karena memiliki sifat pembentuk basis yang baik dalam proses pembuatan serum.

Skala : rasio.

Satuan : persen

##### b. Kadar TNF- $\alpha$

Kadar TNF- $\alpha$  adalah TNF- $\alpha$  yang terkandung pada jaringan kulit sampel marmut setelah perlakuan dengan serum dan paparan UVB diambil pada hari ke-29. Kadar TNF- $\alpha$  didapat dengan analisis menggunakan metode ELISA dengan prosedur menyesuaikan sampel dari jaringan kulit secara lokal.

Skala : rasio.

Satuan : ekspresi relatif (x)

### c. Kadar SOD

Kadar SOD adalah SOD yang terkandung pada jaringan kulit sampel marmut setelah perlakuan dengan serum dan paparan UVB diambil pada hari ke-29. Kadar SOD didapat dengan analisis menggunakan metode ELISA dengan prosedur menyesuaikan sampel dari jaringan kulit secara lokal.

Skala : rasio.

Satuan : ekspresi relatif (x).

## 4.3. Subjek dan Sampel Penelitian

### 4.3.1. Subjek Penelitian

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah marmut (*Cavia porcellus*) jantan, berusia 2-3 bulan, dengan berat badan 300-350 gram, yang dinyatakan sehat dan layak digunakan untuk penelitian. Diadaptasi selama 7 hari di Laboratorium hewan coba *Integrated biomedical laboratory* (IBL) Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

### 4.3.2. Sampel penelitian

#### 4.3.2.1. Kriteria inklusi

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Marmut jantan kondisi sehat
- b. Berat badan antara 300-350gram
- c. Berumur 2-3 bulan

#### 4.3.2.2. Kriteria Eksklusi

Kriteria Eksklus pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Marmut yang tidak sehat, memiliki kelainan anatomi tubuh
- b. Terdapat luka pada bagian kulit marmut
- c. Marmut dengan usia yang sudah tua

#### 4.3.2.3. Kriteria *Drop Out*

Marmut terkena infeksi atau mati selama perlakuan penelitian.

### 4.3.2. Cara Pengambilan Sampel penelitian

Pengambilan sampel penelitian dilakukan secara acak. Marmut dibagi menjadi 5 kelompok yaitu : *Sham* (marmut sehat), Kontrol Negatif (Marmut hanya dipapar UVB), Perlakuan 1 (Marmut dipapar UVB dengan perlakuan serum ekstrak daun sukun 2% diberikan secara topikal), Perlakuan 2 (Marmut dipapar UVB dengan perlakuan serum ekstrak daun sukun 4% diberikan secara topikal), dan Perlakuan 3 (Marmut dipapar UVB dengan perlakuan serum ekstrak daun sukun 6% diberikan secara topikal).

### 4.3.2. Besar Sampel

Sampel minimal menggunakan kriteria *World Health Organization* (WHO). Total sampel pada penelitian ini berjumlah 30 ekor marmut, yang dibagi kedalam 5 kelompok, masing-masing kelompok berjumlah 6 ekor. Pengambilan sampel dilakukan 1 kali pada hari ke-8 dengan cara randomisasi.

Besar sampel yang diperlukan dalam penelitian ini menggunakan

rumus sampel eksperimental dari Federer, dengan rumus :<sup>51</sup>

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75 \rightarrow \text{ditetapkan sampel 6 ekor setiap kelompok}$$

keterangan : t = banyaknya perlakuan

n = banyaknya sampel setiap perlakuan

#### 4.4. Instrument dan Bahan Penelitian

##### 4.4.1. Instrumen Penelitian

Penelitian ini menggunakan peralatan antara lain:

- a. Microplate reader
- b. Inkubator 37°C
- c. Mikropipet
- d. Tip
- e. Gelas Beker
- f. Mikrotube 1,5 mL
- g. Tissue
- h. Marker Ink
- i. Rak slides
- j. Rak celup
- k. Humidity chamber

- l. Microwave
- m. Deck glass
- n. Entellan
- o. Tissue
- p. Timer

#### 4.4.2. Bahan Penelitian

Bahan dan reagensia yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Parafilm
- b. Larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%
- c. Etanol konsentrasi 70%, 80%, 90%, 100% I, 100% II
- d. Xylene
- e. PBS
- f. Citrate buffer
- g. ELISA Kit SOD
- h. ELISA Kit TNF- $\alpha$
- i. Sampel jaringan kulit marmut
- j. Aquades

#### 4.5. Cara penelitian

##### 4.5.1. Perolehan *Ethical clearance*

*Ethical clearence* penelitian diajukan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

#### 4.5.2. Skrining dan Uji Flavonoid

Prosedur Skrining dan uji flavonoid yaitu :

1. Analisis flavonoid dilakukan menggunakan reagen larutan standar kuersetin Konsentrasi 2ppm, 4ppm, 6ppm, 8ppm, dan 10 ppm.
2. Pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 415 nm.
3. Absorbansi yang dilakukan untuk pengujian flavonoid dilakukan dengan variasi konsentrasi etanol yaitu 60%, 70%, 80%, 90% dan 99,8% serta variasi waktu masserasi yaitu 24 jam, 30 jam, 36 jam, 42 jam dan 48 jam.
4. Hasil nilai absorbansi dimasukan sebagai nilai x pada persamaan regresi kurva standart.
5. Didapat hasil kadar flavonoid dari daun sukun.

#### 4.5.3. Cara Membuat Ekstrak Daun Sukun

Pembuatan ekstrak daun sukun dilakukan masserasi dengan etanol 70%.

Prosedurnya sebagai berikut :

1. Pemilihan daun sukun yang akan diekstrak, dilakukan pengeringan dengan oven suhu 35°C.
2. Pembuatan masserasi dengan menghaluskan daun sukun dengan blender hingga 40 mesh.
3. Setelah didapat serbuk daun sukun, dilakukan ekstraksi menggunakan etanol 70%.
4. Proses penyaringan dengan kertas saring hingga didapat filtrasi.
5. Penguapan etanol dengan *vacuum rotary evaporator* untuk memisahkan flavonoid dengan etanol
6. Didapat hasil flavonoid dari daun sukun.

#### 4.5.4. Cara Membuat Serum Ekstrak Daun Sukun,<sup>52</sup>

1. Carbomer (basis) ditimbang sesuai jumlah lalu dikembangkan dengan air panas suhu 80°C selama 5 jam.
2. Carbomer yang telah mengembang diaduk dan ditambahkan TEA hingga mengental
3. Natrium benzoat dan dinatrium EDTA dilarutkan ke dalam gliserin kemudian dicampurkan ke dalam basis
4. Ekstrak daun sukun (dibuat *base serum* dan sediaan 3 formula serum ekstrak daun sukun dengan konsentrasi 2%, 4% dan 6%), dilarutkan dengan 5 mL etanol 70% kemudian ditambahkan ke dalam campuran basis dan diaduk hingga homogen
5. Serum yang terbentuk dilakukan berbagai pengujian yaitu pH, viskositas, daya sebar dan daya lekat.

#### 4.5.5. Penetapan dosis

Dosis pemberian ekstrak serum daun sukun secara topical ditentukan sebelum penelitian dilakukan berdasarkan pada studi literatur. Penelitian sebelumnya menyatakan : pemberian krim ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) 3% dapat mencegah peningkatan melanin kulit pada marmut (*Cavia procellus*) yang dipapar sinar UVB. Pemberian krim ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) 3% sama efektifnya dengan krim hidrokuinon 4% dalam mencegah peningkatan jumlah melanin kulit marmut.<sup>10</sup> Pada penelitian lain secara eksperimental *in vitro* yang dilakukan oleh Sholikha M, dkk., menegaskan bahwa : gel ekstrak sukun

kadar 2%, 4%, dan 6% menghambat tyrosinase dengan substrat L-Dopa, dengan formula secara berurutan 40,35%, 39,11% dan 37,21%.<sup>16</sup>

Pada penelitian ini menggunakan dosis 2%, 4% dan 6% serum ekstrak daun sukun yang dioles secara topical pada kulit marmut yang dipapar sinar UVB.

#### 4.5.6. Penyinaran UVB dan Perlakuan

1. Marmut diadaptasi 7 hari di tempat penelitian.
2. Bulu marmut pada bagian punggung dicukur dengan diameter 2 cm.
3. Punggung marmut dipapar sinar UVB menggunakan lampu Exo Terra Reptile UVB 150-25 W Desert Terrarium Bulb, yang dikalibrasi dengan radiometer FLUX; berjarak 15 cm; selama 130 detik; dilakukan 3x perminggu (hari senin, rabu dan jum'at); dengan dosis tunggal  $65 \text{ mJ/cm}^2$  selama 4 minggu, sehingga dosis total selama 28 hari didapatkan  $780 \text{ mJ/cm}^2$ .<sup>2,53,54</sup>
4. Kontrol *Sham*, marmut sehat tidak diberi perlakuan.
5. Kontrol Negatif, diberi perlakuan dengan *base* serum secara topical 20 menit sebelum dipapar UVB, dan 4 jam setelah dipapar UVB.
6. Marmut Perlakuan 1 diberikan serum ekstrak daun sukun 2% secara topical 20 menit sebelum dipapar UVB, dan 4 jam setelah dipapar UVB.
7. Marmut Perlakuan 2 diberikan serum ekstrak daun sukun 4% secara topical 20 menit sebelum dipapar UVB, dan 4 jam setelah dipapar UVB.

8. Marmut Perlakuan 3 diberikan serum ekstrak daun sukun 6% secara topical 20 menit sebelum dipapar UVB, dan 4 jam setelah dipapar UVB.
9. Pada hari ke-29 dilakukan teminasi untuk diambil sampel jaringan kulitnya.

#### **4.5.7. Pengambilan Sampel Jaringan Untuk Pemeriksaan ELISA**

Marmut pada hari ke-29 diterminasi menggunakan cairan kloroform yang telah dibasahi pada kapas, kemudian dimasukkan ke dalam wadah tertutup. Selanjutnya diambil sampel jaringan dengan cara bisopsi pada bagian punggung dengan ukuran 1x1 cm sampai subkutan, ketebalan kira-kira 2 mm.<sup>2,23</sup> Sampel jaringan dimasukkan ke dalam tabung dan direndam dengan cairan PBS, kemudian disimpan dalam freezer suhu -80° sehingga proses analisis ELISA dapat dilakukan.

#### **5.5.8. Prosedur Pemeriksaan ELISA TNF- $\alpha$ dan SOD**

1. Siapkan semua reagen, larutan standar dan sampel sesuai instruksi. Bawa semua reagen ke suhu ruang sebelum digunakan. Pengujian dilakukan pada suhu ruang.
2. Tentukan jumlah strip yang diperlukan untuk pengujian. Masukkan strip yang tersisa ke dalam aluminium zip untuk disimpan.
3. Strip yang tidak digunakan harus disimpan pada suhu 2-8°C.
4. Tambahkan 50 $\mu$ l standar ke sumuran standar. Catatan: Jangan menambahkan antibodi ke standar karena larutan standar

mengandung antibodi terlabel biotin.

5. Tambahkan 40 $\mu$ l sampel yang sudah disonikator, dan dilisiskan dengan PBS ke sumuran sampel lalu tambahkan 10 $\mu$ l antibodi anti TNF- $\alpha$  atau SOD ke sumuran sampel, lalu tambahkan 50 $\mu$ l streptavidin-HRP ke sumuran sampel dan sumur standar (Bukan sumuran blanko). Campur dengan baik. Tutupi plate dengan sealer. Inkubasi 60 menit pada suhu 37°C.
6. Lepaskan sealer dan cuci sumuran 5 kali dengan wash buffer setidaknya 0,3 ml selama 30 detik hingga 1 menit untuk setiap pencucian.
7. Tambahkan 50 $\mu$ l larutan substrat A ke masing-masing sumuran dan kemudian tambahkan 50 $\mu$ l larutan substrat B ke setiap sumuran.
8. Inkubasi plate yang ditutup dengan sealer baru selama 10 menit pada suhu 37°C di tempat gelap.
9. Tambahkan 50 $\mu$ l Stop Solution ke masing-masing sumuran, warna biru akan langsung berubah menjadi kuning.
10. Tentukan nilai OD masing-masing sumuran menggunakan microplate reader yang diset pada 450 nm dalam waktu 10 menit setelah menambahkan stop solution.

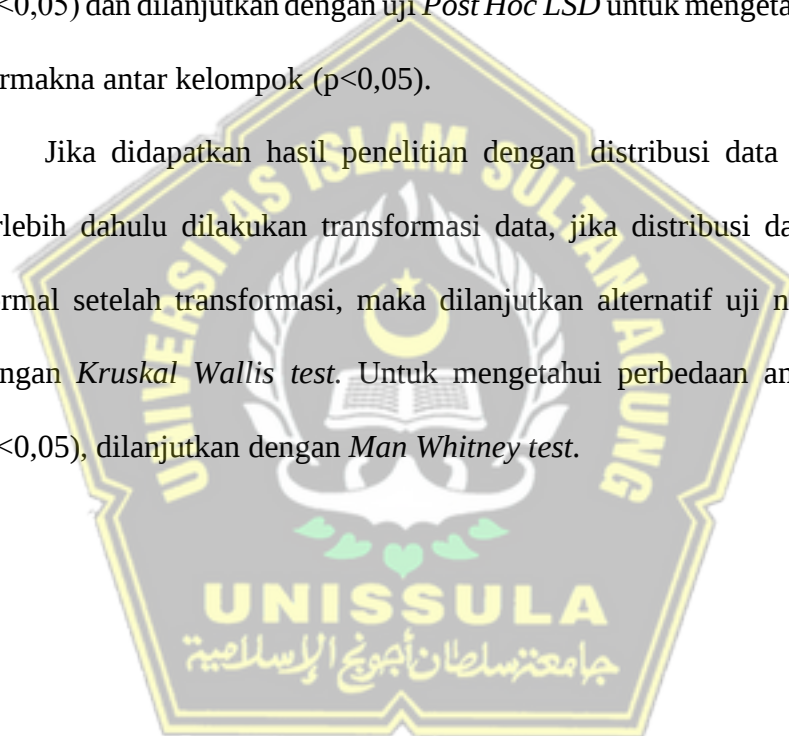
#### **4.6. Tempat dan waktu penelitian**

Penelitian dilaksanakan di laboratorium IBL FK Unissula, Rencana riset dilaksanakan bulan September-November 2023.

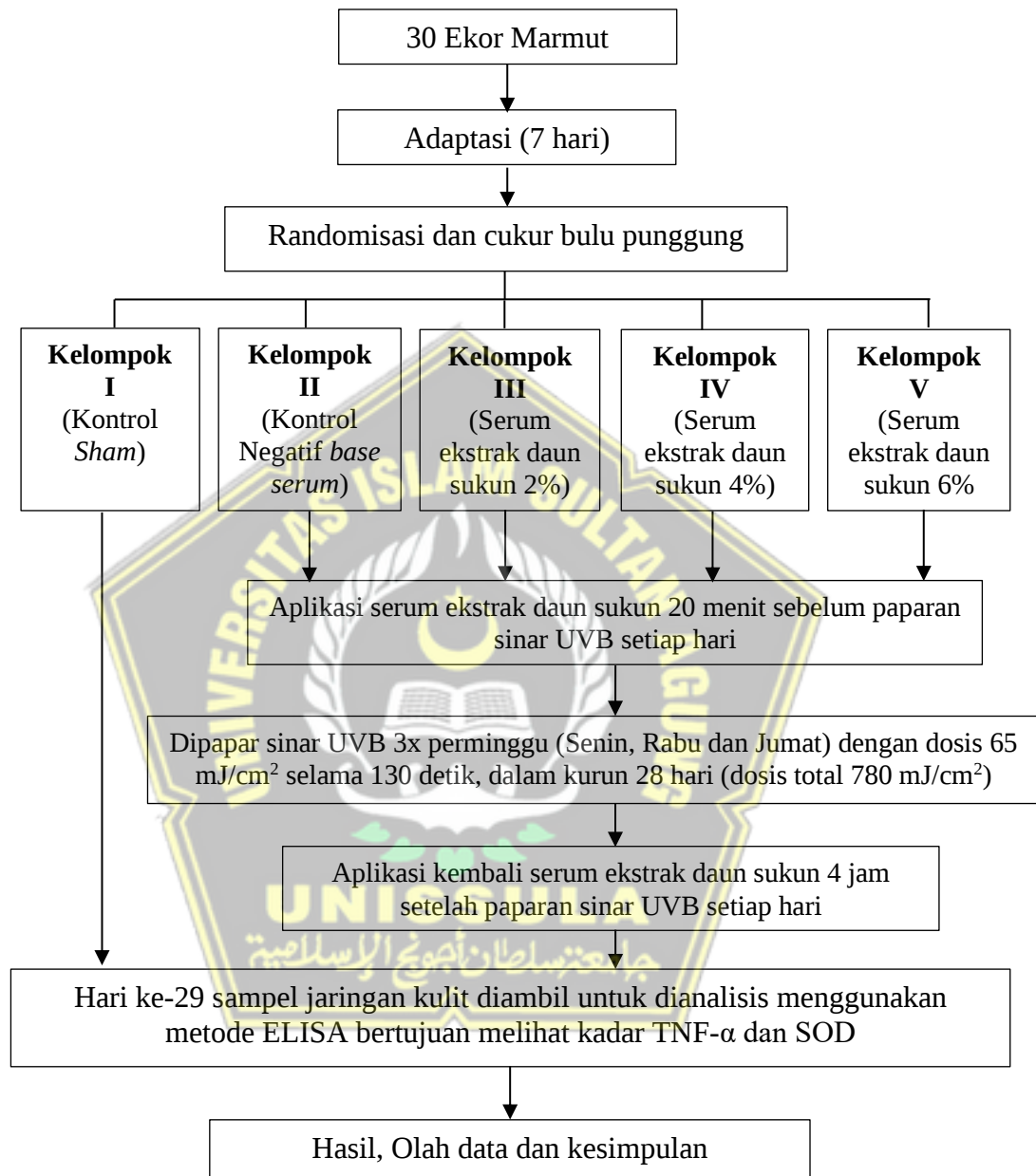
#### 4.7. Analisis data

Data yang diperoleh terlebih dahulu dilakukan pemrosesan, disunting, dan ditabulasi, dengan menggunakan aplikasi dekstop SPSS *for windows*. Kemudian dilakukan uji normalitas data mempergunakan *Shapiro Wilk test* dan pengujian varian data mempergunakan *Levene test* ( $p > 0,05$ ). Untuk mengetahui perbedaan tiap kelompok digunakan uji One-way ANOVA ( $p < 0,05$ ) dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* untuk mengetahui perbedaan bermakna antar kelompok ( $p < 0,05$ ).

Jika didapatkan hasil penelitian dengan distribusi data tidak normal, terlebih dahulu dilakukan transformasi data, jika distribusi data tetap tidak normal setelah transformasi, maka dilanjutkan alternatif uji non-parametrik dengan *Kruskal Wallis test*. Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok ( $p < 0,05$ ), dilanjutkan dengan *Man Whitney test*.



#### 4.8. Alur penelitian



**Gambar 4.2.** Alur penelitian

## **BAB V**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian serum ekstrak daun sukun (*Artocarpus Altilis*) terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan SOD pada marmut yang dipapar sinar UVB. Studi eksperimental *in vivo* dilakukan selama Bulan September-Nopember 2023 di laboratorium IBL FK Unissula Semarang. Penelitian ini menggunakan hewan coba marmut (*Cavia porcellus*) jantan, berusia 2-3 bulan, dengan berat badan antara 300-350 gram. Bulu punggung marmut dicukur dengan diameter 2 cm, kemudian dipapar sinar UVB menggunakan lampu Exo Terra Reptile UVB 150-25 W Desert Terrarium Bulb, berjarak 15 cm, selama 130 detik, dilakukan 3x perminggu, dengan dosis tunggal 65 mJ/cm<sup>2</sup> selama 4 minggu, sehingga dosis total didapatkan 780 mJ/cm. Dilakukan randomisasi ke dalam 5 kelompok penelitian yang terdiri dari : Kelompok I adalah *Sham* atau hewan sehat; kelompok II kontrol negatif yang dipapar sinar UVB dan diberikan *base serum*; kelompok III diberikan perlakuan 1 (serum ekstrak daun sukun 2%); kelompok IV diberikan perlakuan 2 (serum ekstrak daun sukun 4%); dan kelompok V diberikan perlakuan 3 (serum ekstrak daun sukun 6%). Setelah selesai perlakuan, 1 hari kemudian hewan coba diterminasi untuk diambil jaringan, dan selanjutnya dilakukan pemeriksaan ELISA terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan SOD, yang dibandingkan antar kelompok penelitian. Adapun waktu penelitian berlangsung selama 5 minggu (1 minggu hewan coba diadaptasi, dan 4 minggu berikutnya dipapar UVB dan diberi perlakuan).

## 5.1. Hasil Penelitian

### 5.1.1. Determinasi dan Ekstraksi Serum Daun Sukun

Daun sukun (*Artocarpus Altilis*) yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari perkebunan lokal kota Semarang. Determinasi bahan dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang.

Daun sukun dikeringkan dan dimaserasi dengan ethanol 70% selama 3 hari, kemudian disaring menggunakan kertas saring, residu yang didapat dilakukan proses remaserasi dengan sisa pelarut ethanol selama 2 hari untuk mengekstrak zat aktif pada daun sukun. Filtrat yang didapat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan *waterbath* sehingga didapatkan ekstrak kental daun sukun. Pada bagian akhir formulasi fase minyak yang dipilih adalah *carbomer*, karena memiliki sifat pembentuk basis yang baik dalam proses pembuatan serum. Sediaan dibuat ke dalam 1 *base serum* dan 3 dosis lainnya yaitu 2%, 4% dan 6%. Telah dilakukan uji fitofarmaka, hasilnya menunjukkan : serum ekstrak daun sukun tersebut positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin.

### 5.1.2. Uji Mexameter dan gambaran Histopatologi sesudah perlakuan

#### 5.1.2.1. Uji Mexameter sesudah perlakuan

Pada penelitian ini, dilakukan pemeriksaan menggunakan alat Mexameter sesudah perlakuan penelitian pada semua kelompok. Setelah adaptasi hewan coba selama 7 hari, dilanjutkan perlakuan penelitian, kemudian dilakukan pengukuran Mexameter setelah selesai perlakuan minggu ke-4 penelitian, atau sebelum marmut diterminasi. Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan rerata indeks

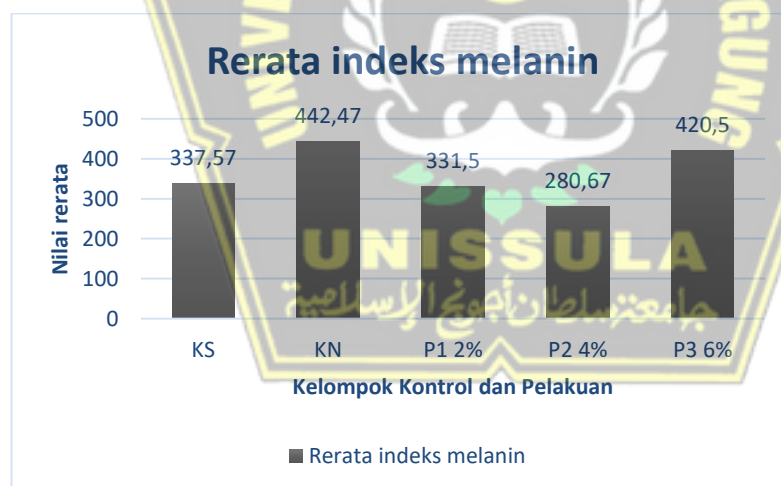
melanin setiap kelompok penelitian, hal ini dilakukan sebagai pembandingan terhadap pengukuran kadar TNF- $\alpha$  dan SOD masing-masing kelompok sesudah perlakuan. Adapun hasil pengukuran Mexameter seperti terlihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 5.1. Uji normalitas dan homogenitas indeks melanin setelah perlakuan setiap kelompok penelitian.

| Kelompok | Rerata | SD    | Shaphiro Wilk | Levene test | One-way ANOVA |
|----------|--------|-------|---------------|-------------|---------------|
| KS       | 337,57 | 48,36 | 0,664         | 0,879       | 0,000*        |
| KN       | 422,47 | 38,25 | 0,482         |             |               |
| P1       | 331,50 | 43,83 | 0,262         |             |               |
| P2       | 280,67 | 45,69 | 0,187         |             |               |
| P3       | 420,50 | 27,97 | 0,874         |             |               |

Tanda \* = Bermakna signifikan ( $p < 0,05$ )

Grafik 5.1. Nilai rerata indeks melanin setelah perlakuan setiap kelompok penelitian



Berdasarkan tabel 5.1. dan Grafik 5.1. di atas didapatkan nilai rerata indeks melanin tertinggi pada kelompok KN (kontrol negatif) yaitu  $422,47 \pm \text{SD } 38,25$ . Nilai rerata indeks melanin terendah pada kelompok perlakuan P2 (serum ekstrak daun sukun 4%) yaitu  $280,67 \pm \text{SD } 45,69$ ; diikuti kelompok perlakuan P1 (serum

ekstrak daun sukun 2%) yaitu  $331,50 \pm SD\ 43,83$ . Jadi dalam hal ini perlakuan serum ekstrak daun sukun 4% paling baik dalam mempengaruhi penurunan indeks melanin, sementara pada dosis 6% kurang efektif. Data terdistribusi normal pada semua kelompok penelitian dengan nilai  $p > 0,05$ , varian data homogen dengan nilai *Levene test* 0,879 ( $p > 0,05$ ). Pada uji One-way ANOVA didapatkan nilai 0,000 ( $p < 0,05$ ), kemudian dilanjutkan uji *Post Hoc LSD*.

Tabel 5.2. Perbedaan rerata indeks melanin antar kelompok penelitian setelah perlakuan

| Kelompok | KS     | KN     | P1     | P2     | P3     |
|----------|--------|--------|--------|--------|--------|
| KS       | -      | 0,002* | 0,802  | 0,025* | 0,002* |
| KN       | 0,002* | -      | 0,001* | 0,000* | 0,935  |
| P1       | 0,802  | 0,001* | -      | 0,044* | 0,001* |
| P2       | 0,025* | 0,000* | 0,044* | -      | 0,000* |
| P3       | 0,002* | 0,935  | 0,001* | 0,000* | -      |

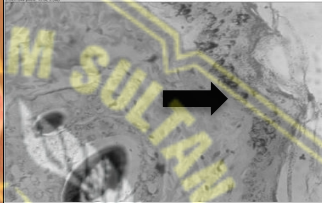
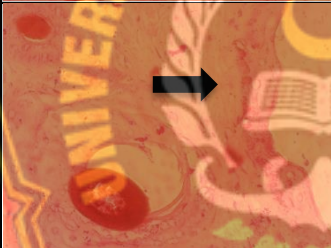
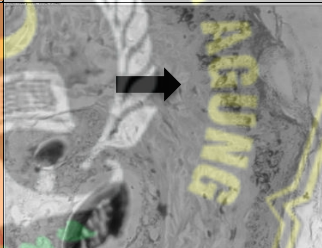
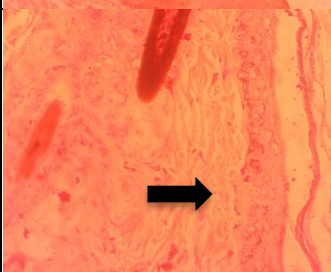
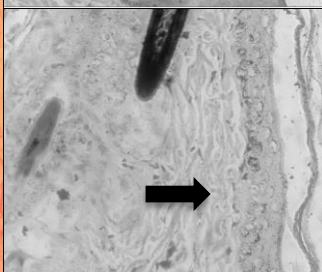
Tanda \* = Bermakna signifikan ( $p < 0,05$ )

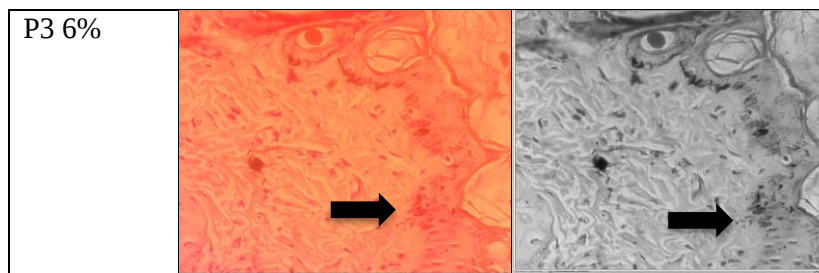
Berdasarkan tabel 5.2 di atas didapatkan hasil uji *Post Hoc LSD* indeks melanin sebagai berikut : Kelompok KS berbeda signifikan terhadap KN ( $p = 0,002$ ); Kelompok KS berbeda signifikan terhadap P2 dan P3 ( $p_2 = 0,025$ ;  $p_3 = 0,002$ ); namun Kelompok KS tidak berbeda signifikan terhadap P1 ( $p = 0,802$ ). Kelompok KN berbeda signifikan terhadap P1 dan P2 ( $p_1 = 0,001$ ;  $p_2 = 0,000$ ); tetapi Kelompok KN tidak berbeda signifikan terhadap P3 ( $p = 0,935$ ). Kelompok P1 berbeda signifikan terhadap P2 dan P3 ( $p_2 = 0,044$ ;  $p_3 = 0,001$ ); dan Kelompok P2 berbeda signifikan terhadap P3 ( $p = 0,000$ ). Jadi kelompok perlakuan P3 kurang efektif dibanding P2 dan P1.

### 5.1.2.2. Gambaran Histopatologi sesudah perlakuan

Dengan pengecatan Fontana, pigmen melanin berwarna coklat kehitaman tersebar terutama di area basal dan folikel rambut. Dengan *software Image*, dan mengubah tipe gambar menjadi 16 bite sebaran pigmen terlihat warna kehitaman.

Gambar 5.1. Histopatologi pengecatan Masson Fontana antar kelompok penelitian sesudah perlakuan

| Kelompok | Pengecatan Fontana                                                                  | Gambar yang diadjust dengan Image                                                    |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| KS       |   |   |
| KN       |  |  |
| P1 2%    |  |  |
| P2 4%    |  |  |



Keterangan : Pengecatan Masson Fontana pigmen melanin berwarna coklat kehitaman tersebar terutama di area basal dan folikel rambut. Dengan software Image, mengubah tipe gambar menjadi 16 bite sebaran pigmen terlihat berwarna kehitaman

Berdasarkan gambar 5.1. di atas, Gambaran melanin ditunjukkan oleh tanda panah. Pada kelompok kontrol KS terlihat kumpulan melanin berwarna coklat/hitam yang padat berkelompok terutama memenuhi area basal epidermis dan seluruh lapisan atas epidermis; Kelompok KN melanin lebih padat dari KS; sedangkan Kelompok perlakuan P2 (serum ekstrak daun sukun 4%) kumpulan melanin lebih sedikit dan tersebar merata di seluruh basal dan permukaan epidermis dibanding P1 dan P3.

### 5.1.3. Pengaruh pemberian serum ekstrak daun sukun (*Artocarpus Altilis*) terhadap kadar TNF- $\alpha$ pada kulit marmut yang dipapar sinar UVB

Setelah dilakukan paparan UVB dan perlakuan selama 28 hari, setelah 24 jam selanjutnya pada hari ke-29, marmut diterminasi dan sampel jaringan kulit diambil dan dianalisis menggunakan metode pemeriksaan ELISA untuk mengukur kadar TNF- $\alpha$  dan SOD pada setiap kelompok.

Tabel 5.3. Uji normalitas dan homogenitas kadar TNF- $\alpha$  antar kelompok penelitian setelah perlakuan

| Kelompok | Rerata | SD   | Shaphiro Wilk | Levene test | Oneway ANOVA |
|----------|--------|------|---------------|-------------|--------------|
| KS       | 6,069  | 1,40 | 0,200         | 0,725       | 0,508        |
| KN       | 5,811  | 1,04 | 0,200         |             |              |
| P1       | 5,820  | 0,88 | 0,200         |             |              |
| P2       | 4,958  | 1,04 | 0,200         |             |              |
| P3       | 5,964  | 1,42 | 0,096         |             |              |

Tanda \* = Bermakna signifikan ( $p < 0,05$ )

Grafik 5.2. Nilai rerata kadar TNF- $\alpha$  antar kelompok penelitian setelah perlakuan



Berdasarkan tabel 5.3. dan Grafik 5.2. di atas didapatkan nilai rerata kadar TNF- $\alpha$  terendah pada kelompok perlakuan P2 (serum ekstrak daun sukun 4%) yaitu  $4,958 \pm \text{SD } 1,04$ ; sedangkan rerata kadar TNF- $\alpha$  pada Kelompok *sham* (KS) sebesar  $6,069 \pm \text{SD } 1,40$ ; dan Kelompok kontrol negatif (KN)  $5,811 \pm \text{SD } 1,04$ . Data terdistribusi normal pada semua kelompok penelitian dengan nilai  $p > 0,05$ , varian data homogen dengan nilai *Levene test* 0,725 ( $p > 0,05$ ). Pada uji One-way ANOVA didapatkan nilai 0,508 ( $p > 0,05$ ), artinya meskipun kadar TNF- $\alpha$  pada kelompok perlakuan P2 (serum ekstrak daun sukun 4%) paling rendah, namun tidak ada

perbedaan signifikan kadar TNF- $\alpha$  antar kelompok penelitian.

#### 5.1.4. Pengaruh pemberian serum ekstrak daun sukun (*Artocarpus Altilis*) terhadap kadar SOD pada kulit marmut yang dipapar sinar UVB

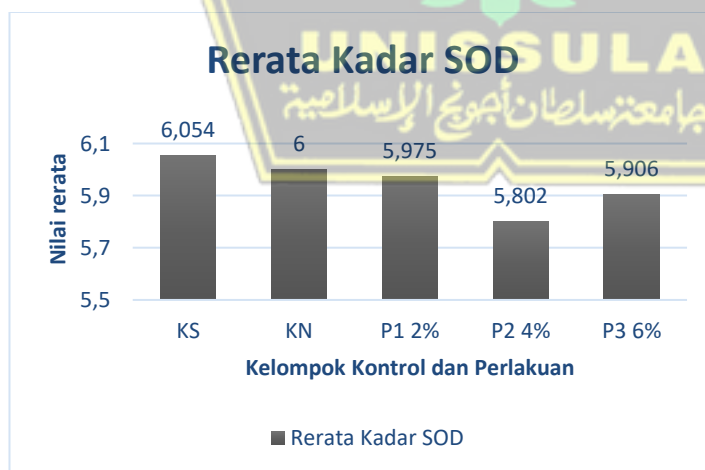
Hasil analisis uji ELISA terhadap kadar SOD antar kelompok penelitian setelah perlakuan seperti yang terlihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 5.4. Uji normalitas dan homogenitas kadar SOD antar kelompok penelitian setelah perlakuan

| Kelompok | Rerata | SD   | Shaphiro Wilk | Levene test | One-way ANOVA |
|----------|--------|------|---------------|-------------|---------------|
| KS       | 6,054  | 0,84 | 0,895         | 0,709       | 0,979         |
| KN       | 6,000  | 0,79 | 0,967         |             |               |
| P1       | 5,975  | 0,45 | 0,901         |             |               |
| P2       | 5,802  | 0,81 | 0,980         |             |               |
| P3       | 5,906  | 0,68 | 0,898         |             |               |

Tanda \* = Bermakna signifikan ( $p < 0,05$ )

Grafik 5.3. Nilai rerata kadar SOD antar kelompok penelitian setelah perlakuan



Berdasarkan tabel 5.4. dan Grafik 5.3. di atas didapatkan nilai rerata kadar SOD tidak jauh berbeda pada semua kelompok, baik pada kelompok kontrol

maupun perlakuan. Adapun rerata kadar SOD pada kelompok P2 (serum ekstrak daun sukun 4%) sebesar  $5,802 \pm \text{SD } 0,81$ ; sedangkan rerata kada SOD pada Kelompok *sham* (KS) :  $6,054 \pm \text{SD } 0,84$ ; dan Kelompok KN :  $6,000 \pm \text{SD } 0,79$ . Data terdistribusi normal pada semua kelompok dengan nilai  $p > 0,05$ , varian data homogen dengan nilai uji *Levene test* 0,709 ( $p > 0,05$ ). Pada uji One-way ANOVA didapatkan nilai 0,979 ( $p > 0,05$ ), artinya tidak ada perbedaan signifikan kadar SOD antar kelompok penelitian.

## 5.2. Pembahasan

Paparan sinar UVB secara terus menerus dapat menyebabkan perubahan kulit, yaitu ketebalan epidermis, elastase dermal, penurunan jumlah protein ECM, peningkatan aktivitas MMP dan fragmentasi kolagen, peningkatan infiltrat inflamasi dan *telangiectasia*. Selain itu, UVB dapat memicu Kerusakan DNA keratinosit yang menginisiasi pelepasan mediator inflamasi, misalnya sitokin IL- $1\alpha$ , IL-6, dan TNF- $\alpha$ . UVB secara langsung juga menginduksi p53 yang akan mempengaruhi jumlah melanin kulit.<sup>1</sup>

Radiasi UVB juga memicu meningkatkan ROS menyebabkan peningkatan sitokin inflamasi, *Growht Factor* dan reseptop aktivator (peningkatan NF-kB dan AP1, penurunan TGF- $\beta$ ), sehingga terjadi penurunan produksi kolagen, peningkatan kerusakan kolagen, peningkatan akumulasi elastin yang ditandai sebagai fotoaging, solar elastosis, wrinkel, telangiektasis dan pigmentasi.<sup>33</sup>

Radiasi UVB menginduksi melanogenesis melalui p53 memicu peningkatan ekspresi proopiomelanocortin (POMC) untuk mensekresikan  $\alpha\text{MSH}$

yang mengatur ekspresi MITF, selanjutnya memicu enzim tyrosinase, Tyrp1 dan Tyrp2. Selain itu, radiasi UVB meningkatkan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) dalam sel keratin dan melanosit, dan pada konsentrasi tinggi ROS menyebabkan kerusakan DNA, mengaktifkan p53 lebih lanjut, dan dengan demikian memicu melanogenesis.<sup>6</sup>

Hal penting yang menjadi perhatian, dalam proses peningkatan pigmen melanin kulit (melanogenesis) seperti diungkapkan artikel di atas adalah adanya radiasi UVB akan memicu peningkatan ROS dan mediator inflamasi seperti TNF- $\alpha$ . Oleh karena itu penelitian ini khusus memeriksa dua parameter yang relevan yaitu SOD sebagai penghambat ROS, dan mediator inflamasi berupa TNF- $\alpha$ , keduanya terlibat langsung dalam proses melanogenesis. Adapun obyek bahan aktif yang kami pilih adalah serum ekstrak daun sukun karena, yang dipercaya memiliki efek secara alami menghambat proses melanogenesis.

Daun sukun (*Artocarpus altilis*) mengandung senyawa flavonoid yang dapat berperan sebagai antioksidan penghambat ROS, anti inflamasi dan menghambat aktivitas enzim tirosinase yang berkhasiat sebagai pencerah kulit. Ekstrak daun sukun mengandung senyawa saponin, flavonoid, triterpenoid dan steroid. Adanya senyawa fenolik maupun flavonoid yang telah dilaporkan seperti flavonol, stilben, asam fenolik, dan kuersetin memberikan kontribusi dalam menghambat aktivitas tirosinase sehingga mencegah terjadinya hiperpigmentasi kulit.<sup>16</sup>

Penelitian ini menggunakan sediaan dalam bentuk serum, karena Salah satu keunggulannya adalah zat aktif yang terkandung di dalam serum bisa lebih banyak dibandingkan sediaan kosmetik lainnya sehingga serum lebih cepat dan lebih

efektif mengatasi masalah kulit.<sup>55</sup>

Uji validasi pada penelitian ini menggunakan pengukuran Mexameter, dan pemeriksaan Histopatologi. Hasil mexameter yang diperoleh, kemudian dibandingkan antar kelompok. Terdapat perbedaan signifikan indeks melanin pada semua kelompok perlakuan P1, P2 dan P3. Didapatkan nilai rerata indeks melanin tertinggi pada kelompok KN (kontrol negatif) yaitu  $422,47 \pm SD 38,25$ . Nilai rerata indeks melanin terendah pada kelompok perlakuan P2 (serum ekstrak daun sukun 4%) yaitu  $280,67 \pm SD 45,69$ ; diikuti kelompok perlakuan P1 (serum ekstrak daun sukun 2%) yaitu  $331,50 \pm SD 43,83$ .

Paparan UVB menyebabkan peningkatan sekresi IL-1 dan TNF- $\alpha$ , akan merangsang tyrosinase melalui kaskade pensinyalan intraseluler spesifik, yang diaktifkan setelah pengikatan endothelin-1 (EDN1) atau *stem cell factor* (SCF) terhadap masing-masing reseptor endothelin B (EDNRB) atau reseptor *stem cell growth factor*, yang dikenal sebagai *proto-oncogen c-KIT* (c-KIT), selanjutnya terjadi aktivasi melanosit menghasilkan stimulasi pigmentasi epidermis.<sup>27</sup>

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai rerata kadar TNF- $\alpha$  terendah pada kelompok perlakuan P2 (serum ekstrak daun sukun 4%) yaitu sebesar  $4,958 \pm SD 1,04$ ; namun tidak berbeda signifikan jika dibandingkan terhadap kelompok kontrol baik KS maupun KN. Sedangkan nilai rerata kadar TNF- $\alpha$  pada kelompok perlakuan P1 dan P3 hampir sama dengan nilai rerata kadar kelompok kontrol (KS dan KN), dan tidak berbeda signifikan. Semua Kelompok perlakuan baik P1, P2, dan P3 jika diperbandingkan satu sama lain juga tidak berbeda signifikan.

Penurunan kadar TNF- $\alpha$  karena pengaruh serum ekstrak daun sukun pada

penelitian ini sesuai dengan teori yang diungkapkan oleh Imokawa G, mengenai mekanisme inhibisi jalur persinyalan intraseluler menyebabkan depigmentasi.<sup>27</sup> Hasil penelitian ini sesuai dengan studi eksperimental secara *in vivo* dan *in vitro* yang dilakukan oleh Tiraravesit *et al.*, tahun 2015, tentang penggunaan ekstrak batang kayu *Artocarpus altilis* secara topikal dapat menurunkan TNF- $\alpha$  dan IL-6 pada jaringan keratinosit.<sup>19</sup> Pada penelitian lain oleh Yang *et al.*, 2022, juga melaporkan bahwa ekstrak *Artocarpus Altilis* memiliki efek anti-penuaan dan anti-inflamasi dengan mengatur fosforilasi protein pensinyalan MAPK dan NF-kB.<sup>18</sup>

Penelitian ini juga memeriksa kadar SOD jaringan, Adapun hasilnya adalah nilai rerata kadar SOD pada semua kelompok baik kontrol maupun perlakuan hampir sama, dan tidak ada perbedaan signifikan. Nilai rerata kadar SOD pada kelompok P2 (serum ekstrak daun sukun 4%) sebesar  $5,802 \pm SD 0,81$ ; tidak berbeda signifikan jika dibandingkan terhadap kelompok kontrol baik KS maupun KN. Semua Kelompok perlakuan baik P1, P2, dan P3 jika diperbandingkan satu sama lain juga tidak berbeda signifikan.

Penurunan Kadar TNF- $\alpha$  pada penelitian ini terjadi pada kelompok perlakuan P2, sementara pada kelompok perlakuan lainnya (P1 dan P3) tidak terjadi penurunan. Sedangkan SOD tidak terjadi perubahan pada semua kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3). Hal ini menjadi keterbatasan dalam penelitian, perubahan yang tidak signifikan pada TNF- $\alpha$  dan SOD ini mungkin disebabkan karena : jumlah sampel penelitian yang sedikit, jenis marmut yang dipilih berwarna putih tidak homogen, atau sensitifitas alat ukur penggunaan pemeriksaan ELISA terhadap jaringan kulit kurang sensitif dalam mendeteksi perubahan terutama

terhadap SOD.

Pada uji validasi menggunakan Mexameter terdapat penurunan signifikan indeks melanin terutama pada Kelompok P2, diikuti P1. Sementara gambaran Histopatologi dengan pengecatan Fontana pada Kelompok perlakuan P2 (serum ekstrak daun sukun 4%) terlihat gambaran berupa : kumpulan melanin lebih sedikit dan tersebar merata di seluruh basal dan permukaan epidermis dibanding P1 dan P3. Sedangkan pada pemeriksaan lain : aktivitas anti oksidan serum ekstrak daun sukun lebih lemah dibandingkan vitamin C.



## **BAB VI**

### **KESIMPULAN**

#### **6.1. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

- 6.1.1. Pemberian serum ekstrak daun sukun (*Artocarpus Altilis*) dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  pada kulit marmut yang dipapar sinar UVB, tetapi tidak signifikan.
- 6.1.2. Pemberian serum ekstrak daun sukun (*Artocarpus Altilis*) tidak berpengaruh signifikan terhadap peningkatan kadar SOD pada kulit marmut yang dipapar sinar UVB.
- 6.1.3. Pemberian serum ekstrak daun sukun (*Artocarpus Altilis*) 4% dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  tetapi tidak signifikan, namun tidak terjadi peningkatan kadar SOD pada kulit marmut yang dipapar sinar UVB.

#### **6.2. Saran**

- 6.2.1. Perlu penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih besar.
- 6.2.2. Perlu penelitian lebih lanjut dengan hewan coba marmut putih yang homogen
- 6.2.3. Perlu penelitian lebih lanjut dengan metode pemeriksaan lainnya yaitu menggunakan parameter pengukuran PCR jaringan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Gromkowska-Kępa KJ, Puscion-Jakubik A, Markiewicz-Zukowska R, Socha K. *The impact of ultraviolet radiation on skin photoaging — review of in vitro studies.* J Cosmet Dermatol. 2021;20(11):3427-3431. doi:10.1111/jocd.14033
2. Cristina Sitanggang T. *Krim Astaxanthin Mencegah Peningkatan Melanin Kulit Marmut (Cavia porcellus) yang Dipapar Sinar Ultraviolet B Astaxanthin Cream Prevents Increased Melanin in Guinea Pig Skin Exposed by Ultraviolet Light B.* Jurnal Media Sains 3 (2): 71-77. Published online 2019.
3. Puspitasari P, Putra Wiraguna A, Pangkahila W. *Krim Ekstrak Teh Hijau 20% (Camellia Sinensis) Mencegah Peningkatan Jumlah Melanin Sama Efektif Dengan Krim Hidrokuinon 4% Pada Kulit Marmut (Cavia Porcellus) Yang Dipajan Sinar Ultraviolet B.* Jurnal Biomedik (JBM), Volume 9, Nomor 2, Juli 2017, hlm. 101-106.
4. Rakhmawati I, Fentami NA. *Uji Aktivitas Penghambat Enzim Tirosinase Dari Fraksi Etil Asetat Daun Sukun (Artocarpus altilis (Park.) Fosberg).* Jurnal Insan Farmasi Indonesia. 1(2):268-273.
5. Xia S, Zhang X, Zheng S, et al. *An Update on Inflamm-Aging: Mechanisms, Prevention, and Treatment.* J Immunol Res. 2016;2016. doi:10.1155/2016/8426874
6. Kumari S, Thng STG, Verma NK, Gautam HK. *Melanogenesis inhibitors.* Acta Derm Venereol. 2018;98(10):924-931. doi:10.2340/00015555-3002
7. Wahjuni, S. *Superoksida Dismutase (Sod) Sebagai Prekursor Antioksidan Endogen Pada Stress Oksidatif.* 1st ed. (Prof. Dr. Iwan H. Utama M, ed.). Udayana University Press, 2015.
8. Kim HY, Sah SK, Choi SS, Kim TY. *Inhibitory effects of extracellular superoxide dismutase on ultraviolet B-induced melanogenesis in murine skin and melanocytes.* Life Sci. 2018;210:201-208. doi:10.1016/j.lfs.2018.08.056
9. Kwon. *In the Human Skin Inhibits Pigmentation, Probably through MITF Deg-Radation via Erk 1/2 Activation in Melanocytes.* Nutrients 2019, 11, 1341; doi:10.3390/nu11061341.
10. Riliani M, Pangkahila W, AAGP W. *Pemberian Krim Ekstrak Daun Sukun (Artocarpus altilis )Mencegah Peningkatan Jumlah Melanin Kulit Marmut (Cavia porcellus )yang Dipapar Sinar Ultraviolet B (UVB ).* Majalah

Kesehatan Pharmamedika. 2018;9(2). doi:10.33476/mkp.v9i2.678.

11. Rahmadari DH, Ananto AD, Julianтони Y. *Kandungan Hidrokuinon dan Merkuri dalam Krim Kecantikan yang Beredar di Kecamatan Alas A. Spin Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia Analysis Of Hydroquinone And Mercury In Beauty Creams Distributed In Alas District How to Cite*. SPIN. 2021;3(1). doi:10.20414/spin.v3i1.3279
12. Indriaty S, Hidayati NR, Bachtiar A. *Bahaya Kosmetika Pemutih yang Mengandung Merkuri dan Hidroquinon serta Pelatihan Pengecekan Registrasi Kosmetika di Rumah Sakit Gunung Jati Cirebon*. Jurnal Surya Masyarakat. 2018;1(1):8. doi:10.26714/jsm.1.1.2018.8-11
13. Pangaribuan L. *Efek Samping Kosmetik Dan Penanganannya Bagi Kaum Perempuan*. Jurnal Keluarga Sehat Sejahtera. 15(2):2017.
14. Silalahi M. *Pemanfaatan Sukun (Artocarpus Altilis) Sebagai Obat Tradisional Dan Bahan Pangan Alternatif*. Best Journal (Biology Education Science & Tchnology. Vol 4.; 2021.
15. Kurniawati, *Article Review: The Potention Of Breadfruit Flowers (Artocarpus Altilis [Park. I] Fosberg) As Natural Antioxidant*, UNESA Journal of Chemistry Vol. 10, No. 1, January 2021
16. Sholikha M, Febriani A, Nirmala SA. *Formulasi Dan Evaluasi Gel Ekstrak Daun Sukun (Artocarpus altilis) Sebagai Antioksidan dan Inhibitor Tirosinase*. EjournalIstnAcId. 2021;14(1).
17. Muzaffer U, Paul VI, Agilan B, Prasad NR. *Protective effect of Juglans regia L., against ultraviolet-B induced photoaging in human epidermal keratinocytes*. Biomedicine and Pharmacotherapy. 2019;111:724-732. doi:10.1016/j.biopha.2018.12.129
18. Yang CY, Pan CC, Tseng CH, Yen FL. *Antioxidant, Anti-Inflammation and Antiaging Activities of Artocarpus altilis Methanolic Extract on Urban Particulate Matter-Induced HaCaT Keratinocytes Damage*. Antioxidants. 2022;11(11). doi:10.3390/antiox11112304
19. Tiraravesit N, Yakaew S, Rukchay R, et al. *Artocarpus altilis heartwood extract protects skin against UVB in vitro and in vivo*. J Ethnopharmacol. 2015;175:153-162. doi:10.1016/j.jep.2015.09.023
20. Hermawan VA, Susanti A. *Serum Kulit Manggis dan Beras Putih Sebagai Antiaging dan Brightening*. Garina. 2022;14(1).
21. Isnani, dkk., *Pesona Skincare & Karamunting*. Diterbitkan Oleh Indiva Mitra

Pustaka PT Indiva Media Kreasi, 2022.

22. Massella D, Argenziano M, Ferri A, et al. *Bio-functional textiles: Combining pharmaceutical nanocarriers with fibrous materials for innovative dermatological therapies*. *Pharmaceutics*. 2019;11(8). doi:10.3390/pharmaceutics11080403
23. Gilaberte Y, Prieto-Torres L, Pastushenko I, Juarranz A. *Anatomy and Function of the Skin*. In: *Nanoscience in Dermatology*. Elsevier Inc.; 2016:1-14. doi:10.1016/B978-0-12-802926-8.00001-X
24. Jang DI, Lee AH, Shin HY, et al. *The role of tumor necrosis factor alpha (Tnf- $\alpha$ ) in autoimmune disease and current tnf- $\alpha$  inhibitors in therapeutics*. *Int J Mol Sci*. 2021;22(5):1-16. doi:10.3390/ijms22052719
25. Wajant H, Siegmund D. *TNFR1 and TNFR2 in the control of the life and death balance of macrophages*. *Front Cell Dev Biol*. 2019;7(May). doi:10.3389/fcell.2019.00091
26. Ansary TM, et al.,. *Inflammatory molecules associated with ultraviolet radiation-mediated skin aging*. *Int J Mol Sci*. 2021;22(8). doi:10.3390/ijms22083974
27. Imokawa G, Ishida K. *Inhibitors of intracellular signaling pathways that lead to stimulated epidermal pigmentation: Perspective of anti-pigmenting agents*. *Int J Mol Sci*. 2014;15(5):8293-8315. doi:10.3390/ijms15058293
28. Khan N, Ahmed S, Sheraz MA, Anwar Z, Ahmad I. *Pharmaceutical based cosmetic serums*. In: *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*. ; 2023:167-210. doi:10.1016/bs.podrm.2022.11.006
29. Davinelli S, Bertoglio JC, Polimeni A, Scapagnini G. *Cytoprotective Polyphenols Against Chronological Skin Aging and Cutaneous Photodamage*. *Curr Pharm Des*. 2018;24(2):99-105. doi:10.2174/13816128 236661711091 02426
30. Wang Y, Branicky R, Noe A, Hekimi S. *Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling*. *Journal of Cell Biology*. 2018;217(6):1915-1928. doi:10.1083/jcb.201708007
31. Altobelli GG, Van Noorden S, Balato A, Cimini V. *Copper/Zinc Superoxide Dismutase in Human Skin: Current Knowledge*. *Front Med (Lausanne)*. 2020;7. doi:10.3389/fmed.2020.00183
32. Tsang CK wan, Liu Y, Thomas J, Zhang Y, Zheng XFS. *Superoxide dismutase 1 acts as a nuclear transcription factor to regulate oxidative stress resistance*.

- Nat Commun. 2014;5:3446. doi:10.1038/ncomms4446
33. Andarina R, Djauhari T. *Antioksidan dalam dermatologi*. JKK. 2017;4(1):39-48.
  34. Gegotek A, Skrzydlewska E. *The role of transcription factor Nrf2 in skin cells metabolism*. Arch Dermatol Res. 2015;307(5):385-396. doi:10.1007/s00403-015-1554-2
  35. Mohania D, Chandel S, Kumar P, et al. *Ultraviolet radiations: Skin defense-damage mechanism*. In: Advances in Experimental Medicine and Biology. Vol 996. Springer New York LLC; 2017:71-87. doi:10.1007/978-3-319-56017-5\_7
  36. Sharma MR, Mitrani R, Werth VP. *Effect of TNF $\alpha$  blockade on UVB-induced inflammatory cell migration and collagen loss in mice*. J Photochem Photobiol B. 2020;213. doi:10.1016/j.jphotobiol.2020.112072
  37. Sumadji AR, Ganjari LE, Nugroho CA, Prwaningsih E. *Morfologi Sukun Artocarpus altilis Forsberg Di Kota Bekasi*. JBP: Jurnal Biologi dan Pembelajarannya Vol. 9, No. 2 (2022), Hal. 76-85.
  38. Rizkyana R, Widodo P, Palupi. *Jejak Artikel R. Keanekaragaman Morfologis Sukun [Artocarpus altilis (Park.) Fosberg, var. non-seminiferus] di Daerah Banyumas*. Jurnal Ilmiah Biologi Unsoed. 2022;4:167-173.
  39. Luangpraditkun K, Viyoch J. *Potential Uses of Artocarpus Altilis Heartwood Extract in Cosmeceuticals*. Naresuan University Journal: Science and Technology 2017; (25)4
  40. Setia Nugraha T, Sari M, Wasiaturrahmah Y. *Formulasi Dan Uji Sifat Fisik Sediaan Lotion Dari Ekstrak Etanol Daun Sukun (Artocarpus Altilis) (Formulation and Physical Properties of Lotion Supplies from Sukun Leaf Ethanol Extracts (Artocarpus Altilis)*. JCPS Journal of Current Pharmaceutical Science, Vol 6.; 2022
  41. Mukhriani. *Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif*, Jurnal Kesehatan, Volume 7, No.2, 2014
  42. Nuryani F, Yustinah, Ismiyati, Nugrahani RA. *Rekayasa Model Laju Pengeringan Pada Proses Maserasi Daun Sukun (Artocarpus Altilis) Dengan Pelarut Etanol*. Jurnal Koversi Universitas Muhammadiyah Jakarta, Volume 11, No.1, 2022.
  43. Ullah A, Munir S, Badshah SL, et al. *Important flavonoids and their role as a therapeutic agent*. Molecules. 2020;25(22). doi:10.3390/molecules 25225243

44. Al-Khayri JM, Sahana GR, Nagella P, Joseph B V., Alessa FM, Al-Mssallem MQ. *Flavonoids as Potential Anti-Inflammatory Molecules: A Review*. Molecules. 2022;27(9). doi:10.3390/molecules27092901
45. Farzaei MH, Singh AK, Kumar R, et al. *Targeting inflammation by flavonoids: Novel therapeutic strategy for metabolic disorders*. Int J Mol Sci. 2019;20(19). doi:10.3390/ijms20194957
46. Serafini M, Peluso I, Raguzzini A. *Flavonoids as anti-inflammatory agents*. In: Proceedings of the Nutrition Society. Vol 69. ; 2010:273-278. doi:10.1017/S002966511000162X
47. Soyata A, Chaerunisaa AY. *Whitening Agent : Mekanisme, Sumber dari Alam dan Teknologi Formulasinya*. Majalah Farmasetika. 2021;6(2):169. doi:10.24198/mfarmasetika.v6i2.28139
48. Gupta A, Kaur CD, Jangdey M, Saraf S. *Matrix metalloproteinase enzymes and their naturally derived inhibitors: Novel targets in photocarcinoma therapy*. Ageing Res Rev. 2014;13(1):65-74. doi:10.1016/j.arr.2013.12.001
49. Pittayapruek P, Meephansan J, Prapapan O, Komine M, Ohtsuki M. *Role of matrix metalloproteinases in Photoaging and photocarcinogenesis*. Int J Mol Sci. 2016;17(6). doi:10.3390/ijms17060868
50. Kwon KR, Alam MB, Park JH, Kim TH, Lee SH. *Attenuation of UVB-induced photo-aging by polyphenolic-rich spatholobus suberectus stem extract via modulation of MAPK/AP-1/MMPs signaling in human keratinocytes*. Nutrients. 2019;11(6). doi:10.3390/nu11061341
51. Amandasari N, Basuki R, Ratnaningrum K, Kartikadewi A. *Efek Protektif Ekstrak Daun Cincau Hijau Terhadap Viabilitas Spermatozoa Mencit Jantan Yang Dipapar Asap Rokok Konvensional Dan Asap Rokok Elektrik Protective Effects of Green Cincau Leaf Extract on Spermatozoa Viability of Male Mice Exposed to Conventional Cigarette Smoke and E-Cigarette Smoke*. Prosiding Seminar Nasional UNIMUS, Volume 4, 2021
52. Khafifa IN, Shabrina A, Rochman MF. *Stability And Sunscreen Activity Of Nutmeg Seed Oil Emulgel With Carbopol 940 Variation As Gel Base*. Jurnal Farmasi Sains dan Praktis. Published online June 30, 2022:167-176. doi:10.31603/pharmacy.v8i2.6085
53. Harlisa P, Mahardhika S, Yuliyanti S. *The Effect of Corncob (Zea Mays) Extract Cream on the Number of Melanin Pigments of Guinea Pig Exposed to Ultraviolet*. Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin - Periodical of Dermatology and Venereology, Vol. 33, No.3, December 2021.

54. Wiraguna AAGP, Pangkahila W. *Krim Ekstrak Etanol Biji Mengkudu (Morinda Citrifolia) Sama Efektifnya Dengan Krim Hidrokuinon Dalam Mencegah Peningkatan Jumlah Melanin Kulit Marmut (Cavia Porcellus) Yang Dipapar Sinar Ultraviolet B 1 Rahmi Sofiana*. Jurnal e-Biomedik (eBm), Vol 5.; 2017.
55. Thakre AD. *Formulation and Development of De Pigment Serum Incorporating Fruits Extract*. International Journal of Innovative Science and Research Technology, Volume 2, Issue 12, December 2017

