

**PENGARUH PEMBERIAN KRIM EKSTRAK KACANG KEDELAI  
TERHADAP KADAR MATRIX METALLOPROTEINASE-1 (MMP-1)  
DAN INTERLEUKIN-6 (IL-6)  
(Studi Eksperimental *in Vivo* Pada Mencit Balb/c yang diinduksi sinar UVB)**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



**Magister Ilmu Biomedik**

**Nofrina Dwi Perwita Arindani**

**MBK 2118010264**

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

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN KRIM EKSTRAK KACANG KEDELAI  
TERHADAP KADAR MATRIX METALLOPROTEINASE-1 (MMP-1)  
DAN INTERLEUKIN-6 (IL-6)**

(Studi Eksperimental in Vivo Pada Mencit Balb/c yang diinduksi sinar  
UVB)

disusun oleh :

**Nofrina Dwi Perwita Arindani**

**MBK 2118010264**

Yang dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 17 Januari 2024 dandinyatakan telah  
memenuhi syarat untuk diterima

Telah disetujui oleh :

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Prof. Dr. Ir. Titiek Sumarawati, Mkes  
NIK. 220198045

Prof. Dr. dr Prasetyowati Subchan, Spkk(K)  
NIK. 8951110021

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas  
Kedokteran Universitas Sultan Agung

جامعته سلطان اأءء السلاوءة



Prof. Dr. dr. H. Agung Putra, M.Si.Med

NIK. 210199050

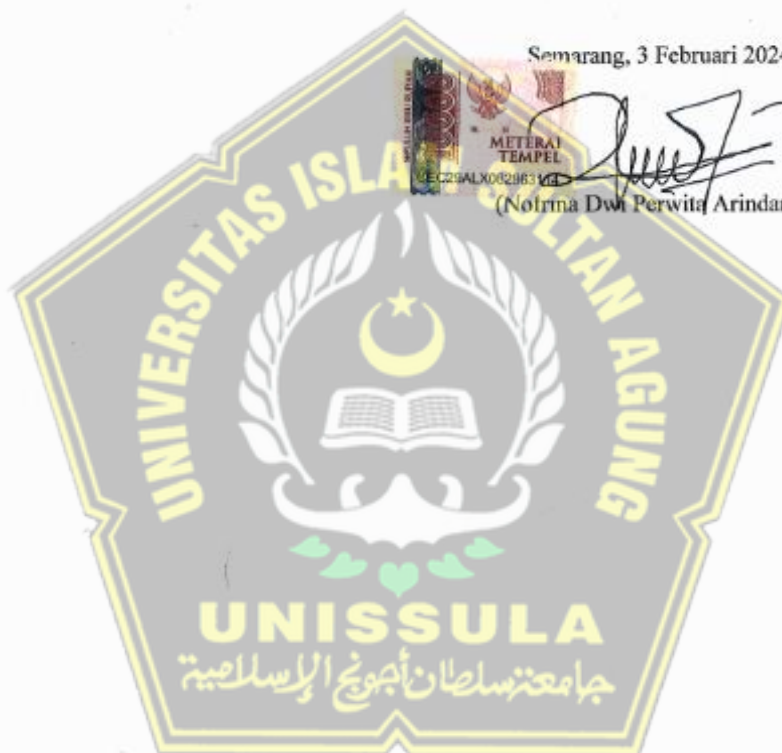
## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum / tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 3 Februari 2024



  
(Notrma Dwi Perwita Arindani)



## ABSTRAK INDONESIA

**Latar belakang :** Radiasi sinar UV mengakibatkan kelainan kulit yang bermula dari pembentukan *reactive oxygen speciess* (ROS) dan sintesis MMP-1 oleh fibroblas dermis yang berperan pada penuaan kulit sehingga terjadi peningkatan kadar IL-6 yang berkorelasi terhadap kerusakan jaringan dan inflamasi yg terjadi. Senyawa yang terkandung dalam ekstrak kacang kedelai diketahui berperan sebagai antiinflamasi dan antioksidan yang dapat meredakan peradangan dan mengurangi dampak negatif sinar UV pd kulit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian krim ekstrak kacang kedelai terhadap kadar MMP-1 dan kadar IL-6 pada jaringan kulit mencit balb/c yang diinduksi sinar UVB

**Metode:** Desain penelitian ini posttest only control group dengan metode rancang acak lengkap. Sampel yang diteliti 36 ekor mencit balb/c betina dengan induksi sinar UVB dengan panjang gelombang 302 nm dan energi 1 MED sebanyak 5 kali seminggu selama 2 minggu. Penelitian ini dilakukan lima kelompok yaitu kelompok sehat (K1), kelompok kontrol negatif (K2), kelompok kontrol positif (K3), dengan kelompok perlakuan 1 (K4) dengan krim ekstrak kacang kedelai 10% dan kelompok perlakuan 2 (K5) dengan krim ekstrak kacang kedelai 20%. Kadar MMP-1 dan Kadar IL-6 dianalisis menggunakan ELISA

**Hasil :** Analisis ELISA menunjukkan bahwa terdapat penurunan rerata konsentrasi MMP-1 yang signifikan antara K2 ( $6488 \pm 805$ ) dibanding K5 ( $5396 \pm 522$ ) dengan nilai  $p < 0.05$ . Analisis konsentrasi IL-6 juga menunjukkan bahwa terdapat penurunan rerata konsentrasi IL-6 yang signifikan pada K4 ( $270 \pm 50$ ) dan K5 ( $242 \pm 54$ ) dibandingkan K2 ( $661 \pm 90$ ) dengan nilai  $p < 0,05$ .

**Kesimpulan:** Pemberian krim ekstrak kacang kedelai dapat menurunkan kadar MMP-1 dan IL-6 pada mencit balb/c betina yang diinduksi sinar UVB

**Kata kunci :** sinar UVB, ekstrak kacang kedelai, MMP-1, IL-6

## ABSTRAK INGRIS

**Background:** UV radiation causes skin disorders that start from the formation of reactive oxygen species (ROS) and the synthesis of MMP-1 by dermal fibroblasts which plays a role in skin aging, resulting in an increase in IL-6 levels which correlates with tissue damage and inflammation that occurs. The compounds contained in soybean extract are known to act as anti-inflammatory and antioxidants which can reduce inflammation and reduce the negative impact of UV rays on the skin. This study aims to determine the effect of giving soybean extract cream on MMP-1 levels and IL-6 levels in the skin tissue of bablb/c mice induced by UVB light.

**Method:** This research design was a posttest only control group with a completely randomized design method. The samples studied were 36 female balb/c mice with UVB light induction with a wavelength of 302 nm and an energy of 1 MED 5 times a week for 2 weeks. This research was carried out in five groups, namely the healthy group (K1), negative control group (K2), positive control group (K3), with treatment group 1 (K4) with 10% soybean extract cream and treatment group 2 (K5) with extract cream, soybeans 20%. MMP-1 levels and IL-6 levels were analyzed using ELISA

**Results:** ELISA analysis showed that there was a significant decrease in the mean MMP-1 concentration between K2 ( $6488 \pm 805$ ) compared to K5 ( $5396 \pm 522$ ) with a p value  $<0.05$ . Analysis of IL-6 concentration also showed that there was a significant decrease in the mean IL-6 concentration in K4 ( $270 \pm 50$ ) and k5 ( $242 \pm 54$ ) compared to K2 ( $661 \pm 90$ ) with a p value  $<0.05$ .

**Conclusion:** Giving soybean extract cream can reduce MMP-1 and IL-6 levels in female Balb/c mice induced by UVB light

Key words: UVB light, soybean extract, MMP-1, IL-6

## KATA PENGANTAR



Dengan memanjatkan Puji dan Syukur Kehadirat Allah SWT atas segala Rahmat dan Karunianya pada penulis, akhirnya penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis yang berjudul: **PENGARUH PEMBERIAN KRIM EKSTRAK KACANG KEDELAI TERHADAP KADAR MATRIX METALLOPROTEINASE-1 (MMP-1) DAN INTERLEUKIN-6 (IL-6)** (Studi Eksperimental *in Vivo* Pada Mencit Balb/c yang diinduksi sinar UV-B). Tesis ditulis dalam rangka memenuhi salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Magister (S.2) Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Penulis menyadari bahwa tesis dapat diselesaikan berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis berterima kasih kepada semuapihak yang secara langsung maupun tidak langsung memberikan kontribusi dalam menyelesaikan Tesis ini. Penulis ingin menyampaikan terima kasih sedalam-dalamnya kepada :

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 Biomedik.
2. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H.,Sp.KF selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

3. Prof. Dr. dr. H. Agung Putra, M.Si. Med selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang .
4. Prof. Dr. Ir. Titiek Sumarawati. Mkes selaku pembimbing I dalam penelitian yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan thesis.
5. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Spkk (K) selaku pembimbing II dalam penelitian yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan thesis.
6. Seluruh tenaga pendidik dan staff administrasi di Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang secara langsung atau tidak langsung telah memberi bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan penulisan tesis.
7. Untuk kedua orang tua yang selalu mendoakan dan mensupport saya ,Ibu tercinta Indah susriyah, bapak tersayang Arifin. Untuk keluarga kecilku Ratu Aleisha, Ahnaf zavier, Suamiku tercinta yang selalu mensupport dan mendoakan.Argie Fariza. Untuk Mama mertua Ibu Dien yang selalu mensupport. Untuk kakakku Rully eka dan adikku tersayang Febrianto. Serta seluruh keluarga besar Arifin dan Sufirman untuk semua doa-doanya.
8. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan dalam penyusunan tesis ini, terimakasih atas dukungannya.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan penelitian ini. Oleh karena itu, saran-saran yang membangun dari

manapun akan diterima dengan terbuka. Harapan penulis semoga penelitian ini bermanfaat untuk berbagai pihak. Aamiin yaa rabbal alamin.

Semarang, Januari 2024

(Nofrina Dwi Perwita Arindani)





## DAFTAR ISI

TESIS .....	i
PERNYATAAN .....	ii
RIWAYAT HIDUP .....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR SINGKATAN.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR BAGAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.3.1 Tujuan umum .....	4
1.3.2 Tujuan khusus .....	4
1.4 Manfaat penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	5
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5
1.5 Originalitas Penelitian .....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Matriks Metalloproteinase-1 ( MMP-1).....	8
2.1.1 Definisi MMP .....	8
2.1.2 Klasifikasi MMP dan fungsinya dalam photoaging.....	8
2.1.3 Aktivitas MMP-1.....	10
2.2 Interleukin-6.....	10
2.2.1 Definisi IL-6.....	10
2.2.2 Peran IL-6 pada inflamasi .....	11
2.3 Kacang kedelai.....	12

2.3.1	Definisi.....	12
2.3.2	Taksonomi kacang kedelai .....	13
2.3.2	Morfologi Tanaman Kedelai .....	13
2.3.4	komponen kacang kedelai .....	16
2.4	Sinar Ultraviolet .....	21
2.5	Kulit .....	23
2.6	Penuaan Kulit .....	25
2.6.1	Penuaan Intrinsik .....	26
2.6.2	Penuaan Ekstrinsik .....	26
2.7	Efek Sinar UV terhadap MMP-1 dan IL-6 .....	30
2.8	Efek ekstrak kacang kedelai ( soybean) terhadap MMP-1 dan IL-6.....	31
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS.....		34
3.1	Kerangka Teori .....	34
3.2	Kerangka konsep .....	37
3.3	Hipotesis.....	37
BAB IV METODE PENELITIAN.....		38
4.1	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	38
4.2	Variabel penelitian dan definisi operasional.....	39
4.2.1	Variabel penelitian .....	39
4.2.2	Definisi Operasional Variabel.....	40
4.3	Subyek penelitian dan sample penelitian .....	41
4.3.1	Subyek penelitian.....	41
4.3.2	Sampel Penelitian.....	42
4.3.2.1	Kriteria inklusi.....	42
4.3.2.2	Kriteria Eksklusi .....	42
4.4	Teknik pengambilan sampel penelitian .....	43
4.5	Besar Sampel.....	43
4.6	Alat dan Bahan .....	45
4.6.1	Alat penelitian .....	45
4.6.2	Bahan penelitian .....	46
4.7	Cara Penelitian .....	46

4.7.1	Ethical clearance .....	46
4.7.2	Penetapan dosis .....	46
4.7.3	Pembuatan Krim.....	47
4.7.4	Penyinaran UV-B pada subyek penelitian .....	47
4.7.5	Cara Penelitian dilakukan sebagai berikut : .....	50
4.8	Tempat dan Waktu Penelitian.....	52
4.9	Analisa Data .....	52
4.10	Alur Penelitian.....	54
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN .....		55
5.1	Hasil Penelitian.....	55
5.1.1.	Interleukin 6 .....	57
5.1.2.	Matriks Metalloproteinase-1 .....	57
5.2.	Pembahasan Hasil Penelitian .....	61
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN .....		65
6.1.	Kesimpulan.....	65
6.2.	Saran .....	65
LAMPIRAN .....		73



## DAFTAR SINGKATAN

AP-1	: Activator Protein-1
COX-2	: Siklooksigenase-2 inhibitor
DNA	: Deoxyribonucleic acid
ELISA	: Enzyne Linked Immunosorbent Assay
ERK	: Extracellular signal-regulated
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrogen peroksida
IL	: Interleukin
JNK	: C-Jun NH <sub>2</sub> -terminal konase
MAPK	: Mitogen-actived Protein Kinases v
MED	: Minimal Erythema Dose
MMP	: Matriks Metalloproteinase
NF-κB	: Nuclear Factor Kappa-B
NO	: Nitrid oxide
OH	: Hidroxil radikal
p53	: Tumor Protein p53
ROS	: Reactive oxygen Species
TGF-β	: Transforming Growth Factor beta
TNF-α	: Tumor Necrosis Factor-alpha
UVA	: Ultra Violet A
UVB	: Ultra Violet B
UVC	: Ultra Violet V

## DAFTAR TABEL

Tabel 1 Originalitas Penelitian.....	6
Tabel 2 Klasifikasi MMP dan fungsinya dalam photoaging. <sup>16</sup> .....	9
Tabel 3 Data Hasil Analisis Kadar IL-6.....	57
Tabel 4. Perbedaan rerata konsentrasi IL-6 antar dua kelompok dengan Uji Post hoc LSD.....	60
Tabel 5 Data Hasil Analisis Kadar MMP-1 .....	60
Tabel 6. Perbedaan rerata konsentrasi MMP-1 antar dua kelompok dengan Uji Post hoc LSD.....	60



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Kacang kedelai .....	16
Gambar 2 Struktur kimiawi isoflavonoid kedelai. <sup>29</sup> .....	20
Gambar 3 Ilustrasi penetrasi berbagai gelombang UV ke lapisan kulit manusia. <sup>31</sup> .....	22
Gambar 4 Lapisan kulit normal, a) tampilan mikroskopik histologi jaringan kulit, (b) skema ilustrasi lapisan kulit <sup>33</sup> .....	24
Gambar 5 Skema proses photoaging <sup>19</sup> .....	29
Gambar 6 Validasi hewan coba : wrinkle dan erymatous palupe pada mencit yang di papar sinar UV dan yang tidak di papar sinar UV pada hari ke-14. <sup>45</sup> .....	49
Gambar 7 Pengecatan Masson Trichome pada mencit yang di papar sinar UV dan yang tidak di papar sinar UV .....	50
Gambar 8 Terdapat kerutan pada mencit yang terpapar UVB (B) dibandingkan dengan yang tidak terpapar (A). Elastin yang ditunjukkan dengan warna merah (panah hitam) lebih banyak terdapat di kelompok tanpa paparan UVB (C), dibanding dengan kelompok dengan paparan UV .....	56
Gambar 9. Grafik Konsentrasi IL-6 pascapemberian krim ekstrak kedelai pada mencit yang terpapar UVB.....	61
Gambar 10. Pola penurunan yang ditunjukkan adalah dose dependent manner dimana dosis tertinggi menghasilkan penurunan konsentrasi MMP-1 yang signifikan.....	61

## DAFTAR BAGAN

Bagan 1 Kerangka Teori .....	36
Bagan 2 Kerangka Konsep .....	37
Bagan 3 Rancangan Penelitian .....	38
Bagan 4 Alur Penelitian .....	54



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Radiasi sinar ultraviolet (UV) dari sinar matahari merupakan salah satu faktor lingkungan yang terlibat pada penuaan dan gangguan kulit.<sup>1</sup> Radiasi UV meningkatkan risiko kerusakan kulit jangka panjang seperti penuaan, immunosupresi, karsinogenesis, merusak protein kulit kolagen dan elastin, sehingga berperan pada berbagai kelainan kulit seperti fotodermatosis, hiperpigmentasi, penuaan kulit, dan lesi prekanker.<sup>2</sup> Hal ini merupakan salah satu masalah kesehatan di Indonesia dengan iklim tropis, dimana saat ini sedang terjadi gelombang panas atau heatwave dan tingginya penduduk dengan mata pencaharian di lingkungan luar. Kelainan kulit yang diakibatkan oleh radiasi sinar UV bermula dari pembentukan reactive oxygen species (ROS) dan sintesis MMP-1 oleh fibroblas dermis yang berperan pada penuaan kulit. Sinar UV menginduksi radikal ROS untuk berperan sebagai perantara sekunder untuk mengaktivasi famili MAPK yang berujung pada kerusakan genetik persisten, ditandai dengan peningkatan ekspresi AP-1 dan MMP. Radiasi UV juga mampu menurunkan ekspresi inhibitor MMP dalam degradasi kolagen, yaitu *tissue inhibitors of matrix metalloproteinase* (TIMP) serta peningkatan kadar IL-6 berkorelasi terhadap kerusakan jaringan dan inflamasi yang terjadi.



Secara umum IL-6 berhubungan dengan IL-1 dan TNF- $\alpha$ , yang artinya ketiga sitokin ini dapat saling berkoordinasi pengeluarannya dari monosit aktif, terutama di daerah inflamasi sehingga sering disebut sitokin proinflamasi (proinflammatory-cytokine).<sup>3</sup>

Salah satu bahan alami yang banyak dijumpai dan mengandung antiinflamasi dan antioksidan yaitu Kacang kedelai yang dapat membantu meredakan peradangan dan mengurangi dampak negatif sinar UV pada kulit.<sup>4</sup> Adapun penelitian sebelumnya dengan pemberian oral ekstrak kacang kedelai dosis 10 mg dan 15 mg terbukti mampu berperan sebagai antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas dan mencegah peroksisasi lipid sehingga menjadi radikal bebas yang lebih stabil.<sup>5</sup> Namun hingga saat ini dosis kacang kedelai yang diberikan secara topical masih mendapatkan hasil yang kurang optimal sehingga penelitian ini dilakukan dengan peningkatan dosis untuk menilai MMP-1 dan IL-6.

Insidensi gangguan kulit akibat sinar UV meningkat setiap tahunnya seiring dengan penipisan lapisan ozon. Insidensi hiperpigmentasi pada tahun 2020 semakin meningkat berjumlah ~100.350 kasus baru.<sup>6</sup> Studi di Australia menemukan tingkat gangguan kulit berhubungan dengan sinar UV sebanyak 72% pada laki-laki dan 47% pada perempuan berusia kurang dari 30 tahun.<sup>7</sup> Persentase tersebut meningkat seiring pertambahan usia, serta berhubungan dengan solar keratosis dan kanker kulit. Studi epidemiologi pada populasi Amerika Utara dengan tipe kulit Fitzpatrick I-III menunjukkan insidensi kerusakan kulit lebih tinggi, yaitu 80-90% .<sup>8</sup>

Penelitian sebelumnya mengatakan bahwa Kacang kedelai (*Soyben*) merupakan salah satu sumber protein yang mengandung komponen bioaktif lain, salah satunya yaitu isoflavonoid yang merupakan anggota dari flavonoid yang memiliki properti antioksidan dan antiinflamatori. Selain itu, flavonoid juga mampu melindungi tumbuhan dari sinar UV dan mengeliminasi ROS yang dihasilkan oleh radiasi UV dan mampu menghambat gelatinase (MMP-2 dan MMP-9) dan neutrofil elastase (MMP-12). Sementara itu, pada penelitian lainnya flavonoid lain seperti genistein, baicalein, quersetin, dan nobiletin telah dilaporkan dapat menurunkan ekspresi MMP-1 pada kulit yang terpapar sinar UV.<sup>9</sup> Penelitian sebelumnya telah mengidentifikasi efek kacang kedelai terhadap kerusakan kulit akibat UVB. Isoflavonoid kumestrol pada kedelai dapat mencegah pembentukan keriput dengan menargetkan FLT3 kinase. Isoflavonoid biokanin A menghambat ekspresi siklooksigenase-2 (COX-2) dari sinar UVB.<sup>10</sup> Kacang kedelai juga memiliki properti anti-inflamatori dengan menurunkan sekresi interleukin (IL)-6, IL-1, nitrit oksida (NO), dan prostaglandin E2.<sup>11</sup> Kombinasi ekstrak kacang kedelai dengan zat lain dapat meningkatkan efek positif dari kacang kedelai itu sendiri, seperti pada penelitian eksperimental lainnya yang menggunakan campuran ekstrak kacang kedelai dengan ekstrak *Haematococcus* dan yang menggunakan campuran ekstrak kacang kedelai dengan peptida kolagen. Kedua penelitian tersebut menunjukkan bahwa kombinasi zat dengan ekstrak kedelai meningkatkan inhibisi MMP-1 secara bermakna.<sup>12-13</sup>

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa salah satu komponen penting yang terdapat dalam kacang kedelai dan bertindak sebagai antioksidan dan

antiinflamatori adalah isoflavon sehingga dengan pemberian ekstrak kacang kedelai dapat menurunkan Reaction Oxidatif Stress (ROS) dan berpotensi untuk mengurangi efek negatif proses penuaan dan kerusakan akibat paparan sinar UVB pada kulit. Oleh karena itu, berdasarkan latar belakang tersebut penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian krim ekstrak kacang kedelai (*soybean*) dengan dosis 10% dan 20% terhadap kadar MMP-1 dan IL-6 pada mencit BALB/c yang diinduksi sinar UVB.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian krim ekstrak kacang kedelai (*soybean*) terhadap kadar MMP-1 dan IL-6 pada mencit BALB/c yang diinduksi sinar UVB ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian krim ekstrak kacang kedelai (*soybean*) terhadap kadar MMP-1 dan IL-6 yang diinduksi sinar UVB pada mencit BALB/c.

### 1.3.2 Tujuan khusus

1. Membuktikan perbedaan kadar MMP-1 pada mencit BALB/c yang diinduksi sinar UVB yang diberikan krim ekstrak kacang kedelai (*soybean*) 10% dan 20% dengan yang tidak diberikan ekstrak kedelai antar kelompok perlakuan dan kontrol

2. Membuktikan perbedaan kadar IL-6 pada mencit BALB/c yang diinduksi sinar UVB yang diberikan krim ekstrak kacang kedelai (*soybean*) 10% dan 20% dengan yang tidak diberikan ekstrak kedelai antar kelompok perlakuan dan kontrol

## 1.4 Manfaat penelitian

### 1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah mengenai peran pemberian krim ekstrak kacang kedelai (*soybean*) terhadap kadar MMP-1 dan IL-6 pada mencit BALB/c yang diinduksi sinar UVB.

### 1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi edukasi bagi masyarakat mengenai manfaat kacang kedelai (*soybean*) pada tubuh. Bagi klinisi, hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi masukan mengenai terapi menggunakan ekstrak kedelai (*soybean*) sebagai antiinflamatori pada individu dengan paparan sinar UVB tinggi.

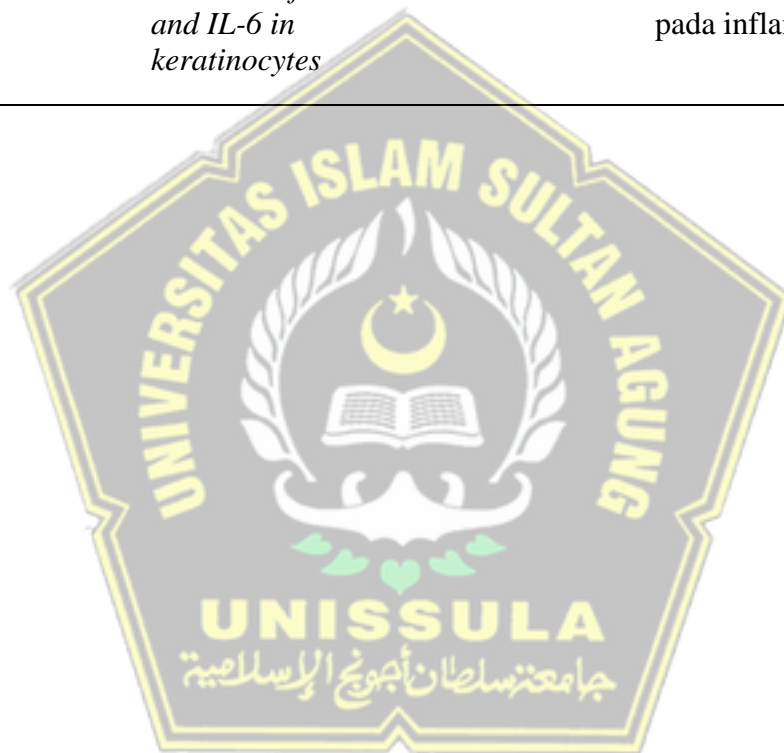
## 1.5 Originalitas Penelitian

Hasil pencarian sumber pustaka menunjukkan saat ini belum ada secara molecular tentang penelitian yang menilai pengaruh pemberian krim ekstrak kacang kedelai (*soybean*) terhadap kadar MMP-1 dan IL-6 yang diinduksi sinar UVB pada mencit BALB/c. Beberapa penelitian yang berhubungan dengan penelitian ini di antaranya:

Tabel 1 Originalitas Penelitian

No	Peneliti	Judul	Metode	Hasil Penelitian
1	Waqas et al., 2014	<i>In vivo Evaluation of a Cosmetic Emulsion Containing Soybean Extract for Anti-Aging</i>	<i>Experimental</i>	Kosmetik Ekstrak <i>soybean</i> berdampak pada elastisitas, ketebalan kulit dan kelembaban kulit dan potensial memiliki efek antiaging
2	Shin et al., 2017	<i>A Combination of Soybean and Haematococcus Extract Alleviates Ultraviolet B-Induced Photoaging</i>	<i>Experimental</i>	Kombinasi ekstrak <i>soybean</i> dan <i>Haematococcus</i> mencegah munculnya keriput kulit melalui inhibisi ekspresi MMP-1, fosforilasi MAPK, dan transaktivasi AP-1
3	Erlangga WidyaPutri, 2018	Pemberian fraksi etil asetat ekstrak kedelai terhadap MMP1 dan rasio kolagen I/III	<i>Experimental</i>	Isoflavon oral mampu menurunkan ekspresi MMP-1, kolagen I/III, jumlah melanin
4	Lee et al., 2022	<i>The soybean cultivar SCEL-1 shows potent anti-photoaging effects in a UV-induced three-dimensional human skin and hairless mouse model</i>	<i>Experimental</i>	Kultur kedelai SCEL-1 menurunkan kadar MMP-1 dan mencegah degradasi kolagen secara bermakna. Zat prosianidin B2 menghambat sintesis MMP-1 pada fibroblas dermis
5	Sun-il choi et al., 2019	<i>Anti-photoaging effect of fermented agricultural by-products</i>	<i>Eksperimental</i>	Produk agrikultur fermentasi oral dapat menghambat sinar UV dan

		<i>on ultraviolet B-irradiated hairless mouse skin</i>		ekspresi MMP-2, MMP-9, MMP-3 dan MMP-13, serta menginduksi sintesa nitric oxida, IL-6 , IL-1B
6	Hiroimi Narumi et al., 2011	<i>Immunohistochemical analysis of in vivo UVB-induced secretion of IL-1a and IL-6 in keratinocytes</i>	<i>Eksperimental</i>	Sinar UVB menginduksi cytokin, ekspresi IL-6 dan IL1a pada inflamasi



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Matriks Metalloproteinase-1 ( MMP-1)**

##### 2.1.1 Definisi MMP

Matriks metalloproteinase (MMP) merupakan famili dari enzim spesifik yang mengatur matriks ekstraseluler pada berbagai jaringan. Enzim MMP tersusun atas endopeptidase berisi zink dengan spesifisitas zat luas. Fungsi MMP yaitu memediasi degradasi berbagai komponen di matriks ekstraseluler. Enzim MMP disekresi oleh keratinosit dan fibroblas dermis sebagai respons terhadap berbagai stimuli seperti stres oksidatif, radiasi UV, dan sitokin. Fungsi MMP tersebut menyebabkan MMP berperan penting dalam berbagai proses patofisiologis termasuk *photoaging*, penyembuhan luka, *remodeling* tulang, arthritis, inflamasi, angiogenesis, dan kanker.<sup>14</sup>

##### 2.1.2 Klasifikasi MMP dan fungsinya dalam photoaging

MMP dapat dikategorikan menjadi 5 subgrup utama berdasarkan spesifisitas substrat dan organisasi struktural (Tabel 2). Kolagenase (MMP-1, MMP-8, dan MMP-13) mengenali substrat melalui domain menyerupai hemopeksin dan mampu mendegradasi kolagen fibril. Gelatinase (MMP-2 dan MMP-9) mampu mengurai kolagen tipe I dan II

Stromelisin (MMP-3, MMP-10, dan MMP-11) memiliki susunan domain menyerupai kolagenase, namun tidak bisa mengurai kolagen tipe I. Matrilisin (MMP-7 dan MMP-26) mampu mendegradasi kolagen tipe IV saja. MT-MMP (MMP-14, MMP-15, dan MMP-16) memiliki domain tambahan terminal C dengan ekor sitoplasmik pendek, di mana MMP-14 dan MMP-16 mampu mengurai kolagen tipe I. Selain kelima subgrup MMP, terdapat MMP yang tidak masuk ke kategori tersebut seperti metaloelastase (MMP-12), RASI-1 (MMP-19), enamelisin (MMP-20), dan epilisin (MMP-28).<sup>15</sup>

Tabel 2 Klasifikasi MMP dan fungsinya dalam photoaging.<sup>16</sup>

Subgrup	Nomor MMP	Nama lain	Peran dalam <i>photoaging</i>
Kolagenase	MMP-1	- Kolagenase interstisial	- Degradasi kolagen tipe I dan III
	MMP-8	- Kolagenase tipe I - Kolagenase neutrofil	- Peran terbatas
	MMP-13	- Kolagenase-3	- Peran terbatas
Gelatinase	MMP-2	- Gelatinase-A - Kolagenase tipe IV 72 kDa	- Degradasi kolagen tipe IV
	MMP-9	- Gelatinase-B - Kolagenase tipe IV 92 kDa	- Degradasi kolagen tipe IV
Stromelisin	MMP-3	- Stromelisin-1 - Proteoglikanase - Transin-1	- Degradasi kolagen tipe I - Aktivasi MMP-1, MMP-7, dan MMP-9
	MMP-10	- Stromelisin-2 - Transin-2	- Aktivasi pro-MMP
	MMP-11	- Stromelisin-3	- Tidak terlibat dalam <i>photoaging</i>
Matrilisin	MMP-7	- Matrilisin-1 - Pump-1	- Degradasi elastin
	MMP-26	- Matrilisin-2 - Endometase	- Tidak terlibat dalam <i>photoaging</i>



<i>Membrane-type (MT)</i>	MMP-14	-	MT1-MMP	-	Tidak terlibat dalam <i>photoaging</i>
	MMP-15	-	MT2-MMP		
	MMP-16	-	MT3-MMP		

### 2.1.3 Aktivitas MMP-1

MMP-1, atau kolagenase-1, merupakan MMP prototipikal dengan peran utama mendegradasi kolagen tipe I dan III. MMP-1 bertugas *remodeling* jaringan dalam kondisi fisiologis sehingga berperan dalam morfogenesis, angiogenesis, embriogenesis, dan penyembuhan luka. Dalam kondisi fisiologis, MMP-1 diekspresikan secara normal pada ginjal, hepar, usus besar, plasenta, usus halus, lambung, kandung kemih, dan pankreas. Pada kondisi patologis, ekspresi MMP-1 berlebih dapat ditemukan pada kulit, hepar, usus besar, paru-paru, dan tali pusat.<sup>17</sup> Degradasi fibril kolagen interstitial seperti kolagen tipe I dan III dimediasi terutama oleh MMP-1. Fungsi utama MMP-1 adalah meregulasi pergantian kolagen. Penuaan pada jaringan kulit baik akibat usia maupun paparan sinar UV akan menginduksi *tumor necrosis alpha* (TNF- $\alpha$ ) untuk meningkatkan aktivasi MMP-1, sehingga fragmentasi kolagen terjadi semakin cepat.<sup>18</sup>

## 2.2 Interleukin-6

### 2.2.1 Definisi IL-6

Interleukin-6 ( IL-6) merupakan sitokin proinflamasi kuat yang dihasilkan oleh beberapa jenis sel, termasuk makrofag yang teraktivasi dan sel T. Interleukin-6 merupakan sitokin pleiotropik yang memiliki kisaran

aktivitas biologi yang luas sehingga tidak spesifik untuk menunjukkan parameter penyakit tertentu.

### 2.2.2 Peran IL-6 pada inflamasi

Peningkatan kadar IL-6 berkorelasi terhadap kerusakan jaringan dan inflamasi yang terjadi.<sup>19</sup> Secara umum IL-6 berhubungan dengan IL-1 dan TNF- $\alpha$ , yang artinya ketiga sitokin ini dapat saling berkoordinasi pengeluarannya dari monosit aktif, terutama di daerah inflamasi sehingga sering disebut sitokin proinflamasi (proinflammatory-cytokine). Nilai normal kadar interleukin-6 dalam serum adalah  $< 4$  pg/ml. Jika kadar interleukin-6 dalam serum adalah  $\geq 4$  pg/ml dapat dikatakan meningkat. Hal ini menandakan bahwa telah terjadi suatu proses inflamasi. Peningkatan IL-6 juga memiliki efek yang merugikan seperti meningkatkan suhu tubuh dan dalam peningkatan kronis IL-6 menyebabkan kerusakan jaringan yang ditandai dengan terjadinya proses inflamasi dan peningkatan produksi leukosit. IL-6 telah diidentifikasi sebagai mediator utama dalam merangsang respons peradangan kulit setelah paparan sinar UV.

IL-6 diproduksi oleh berbagai jenis sel dalam tubuh, termasuk sel-sel kekebalan tubuh seperti makrofag dan limfosit, serta sel-sel non-kekebalan seperti sel-sel endotel pembuluh darah dan sel-sel fibroblas dalam jaringan kulit. Produksi IL-6 dapat dipicu oleh berbagai rangsangan, seperti infeksi, cedera, dan paparan sinar UV. Penelitian sebelumnya produksi IL-6 oleh sel-sel kulit meningkat secara signifikan setelah

paparan sinar UV.<sup>20</sup> Meskipun dapat memicu peradangan, IL-6 juga memiliki potensi sebagai agen fotoprotektif dan pemberian topikal IL-6 dapat mengurangi eritema (kemerahan) dan kerusakan kulit akibat paparan sinar UV. Kerusakan pada DNA dan sel-sel kulit yang disebabkan oleh radikal bebas dapat memicu produksi IL-6.<sup>21</sup> Penelitian lainnya menyatakan bahwa IL-6 dapat diinduksi oleh kerusakan DNA yang disebabkan oleh radikal bebas, dan hal ini dapat berperan dalam perlindungan sel-sel dari kerusakan yang lebih lanjut. Selain merespons kerusakan oleh radikal bebas, IL-6 juga dapat berkontribusi pada sistem antioksidan kulit. Dan dapat merangsang produksi enzim antioksidan, seperti superoksida dismutase, yang membantu melindungi sel-sel kulit dari kerusakan oleh radikal bebas.<sup>22-23</sup>

## 2.3 Kacang kedelai

### 2.3.1 Definisi

*Soybean* atau kedelai (*Glycine max*) merupakan kacang-kacangan dari famili Fabaceae yang umum dibudidayakan di Asia dan saat ini sudah menyebar ke seluruh dunia. Kedelai merupakan sumber protein, serat, dan mikronutrien. Protein pada kedelai tergolong berkualitas dibandingkan protein nabati lain, karena mengandung asam amino esensial dan berpotensi untuk menggantikan protein hewani. Selain protein, kedelai juga merupakan sumber fitokimia seperti asam fenolat, saponin, fitosterol, isoflavonoid, fitat, dan inhibitor tripsin yang berperan dalam mencegah kondisi degeneratif. Ekstrak kedelai telah digunakan dalam bidang

dermatologi sebagai pencerahan kulit, mencegah pigmentasi, dan penuaan.

24

### 2.3.2 Taksonomi kacang kedelai

Taksonomi tanaman kedelai dalam sistematik tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
 Divisi : Spermatophyta  
 Sub Divisi : Angiospermae  
 Kelas : Dicotyledoneae  
 Ordo : Rosales  
 Famili : Leguminoceae  
 Sub Famili : Papilionoideae  
 Genus : Glycine  
 Species : Glycine max (L.) Merrill.<sup>25</sup>

### 2.3.2 Morfologi Tanaman Kedelai

#### a. Akar

Akar tanaman kedelai terdiri dari akar tunggang dimana terbentuk dari bakal akar. Perakaran tanaman kedelai adalah hasil interaksi simbiosis diantara akar tanaman kedelai itu sendiri dengan bakteri nodul akar yang berakibat pada terbentuknya bintil akar yang sangat penting dalam proses fiksasi N<sub>2</sub> yang diperlukan guna meneruskan pertumbuhannya terutama untuk penyediaan unsur hara nitrogen.<sup>25</sup>

#### b. Batang Tanaman

Ada dua jenis pertumbuhan batang antara lain determinit dan interdeminit. Determinit di akhir fase generatif pada puncak batang tanaman ditumbuhi polong, pada tipe interdeminit di bagian pucuk batang tanaman masih terdapat daun yang masih tumbuh. Adapun buku yang ada di batang akan bertambah sesuai penambahan usia tanaman, akan tetapi dalam kondisi normal jumlah buku 15 – 20 dengan jarak antara buku 2 – 9 cm. Batang 10 sendiri ada yang bercabang namun ada pula yang tidak mempunyai cabang, tergantung dari karakteristik varietas, tetapi secara umum cabang tanaman kedelai mempunyai jumlah antar 1 – 5.

#### c. Daun

Kedelai mempunyai daun yang majemuk dimana terdiri dari tiga helai anak daun dan secara umum memiliki warnahijau kuning – kekuningan atauhijau muda. Bentuk daun itu sendiri bervariasi ada yang berbentuk segi tiga ada pula yang berbentuk oval. Daun daun tanaman kedelai saat tua akan mulai rontok.

#### d. Bunga

Tanaman kedelai secara umum tumbuh di ketiak daun, namun kadang pada bunga, bisa juga terbentuk di cabang

tanaman dimana terdapat daun. Pada kondisi lingkungan tumbuh dan populasi tanaman optimal. Bunga mulai terbentuk dari tangkai daun yang paling bawah. Dalam satu kelompok bunga, di setiap ketiak daun akan berisi 1 – 7 bunga, tergantung pada karakter dari jenis kedelai yang ditanam. Pada tiap bunga mempunyai alat reproduksi jantan dan juga betina. Penyerbukan terjadi disaat bunga sedangkuncup. Jumlah bunga yang terbentuk tergantung dari varietas kedelai, tetapi secara umum antara 40 – 200 bunga tiap tanaman.<sup>25</sup>

e. Polong

Setelah bunga yang pertama muncul, makapolong kedelai pertama kali juga akan muncul yaitu sekitar 10 – 14 hari. Mempunyai warna hijau untuk polong yang baru tumbuh dan pada saat panen akan berubah warna menjadi kuning atau kecoklatan. Polong memiliki jumlah 2 – 10 pada tiap kelompok bunga dimana jumlah polong yang bisa dipanen sekitar 20 – 200.<sup>25</sup>

f. Biji

Biji kedelai memiliki bentuk yang bervariasi ada yang bulat, agak gepeng ataupun bulat telur. Sebagian besar berbentuk bulat telur. Demikian pula dengan warna dan

ukuran biji kedelai juga berbeda . Sebagian besar memiliki warna kuning serta sedikit warna hitam.<sup>25</sup>



Gambar 1 Kacang kedelai

#### 2.3.4 komponen kacang kedelai

Bentuk pertumbuhan tanaman kedelai yang optimal ada pada biji, batang, daun, akar, polong, serta bunga. Biji kedelai sendiri terbagi jadi dua bagian paling utama adalah: janin atau embrio serta kulit biji<sup>36</sup>. Berat biji kedelai bisa menjadi dua kali lipat karena mampu menyerap air dengan jumlah cukup banyak.<sup>25</sup>

##### a. Protein

Protein merupakan komposisi utama kedelai yaitu sebanyak 30-50 gr/100 gr kedelai. Protein pada kedelai tersusun atas protein penyimpanan yang disebut sebagai  $\beta$ -konglisinin (7S) dan glisinin (11S), yang mewakili 65-80% total protein kedelai. Kedelai utuh mengandung 7-9% inhibitor protease yang ditemukan pada kotiledon biji. Inhibitor tripsin adalah protein yang tersusun atas 181 residu asam amino dan

struktur tersier yang dependen pada 2 jembatan disulfida, sementara inhibitor protease tersusun atas 81 residu asam amino dan 7 jembatan disulfida. Baik inhibitor tripsin dan inhibitor protease hanya ditemukan pada bagian biji kedelai dan tidak pada bagian tumbuhan lain. Kedelai juga mengandung komponen protein aktif biologis hemagglutinin, inhibitor tripsin,  $\alpha$ -amilase dan lipoxygenases. Kedelai tidak hanya merupakan protein berkualitas tinggi, tetapi sekarang dianggap memainkan peran preventif dan terapeutik beberapa penyakit.<sup>26</sup>

b. Minyak

Kedelai mengandung sekitar 19% minyak, dimana trigliserida adalah komponen utama. Minyak kedelai ditandai dengan jumlah yang relatif besar asam lemak tak jenuh ganda (PUFA), yaitu, asam linoleat 55% dan 8% asam  $\alpha$ -linolenat, dari total asam lemak. Asam linoleat dalam minyak kedelai adalah asam lemak esensial (EFA) famili dari  $\omega$ -6 PUFA, yang memberikan fungsi nutrisi dan fisiologis yang penting. Bahkan  $\alpha$ - linolenat asam juga merupakan EFA milik keluarga asam lemak  $\omega$ -3, dan memainkan peran penting dalam pengaturan sejumlah jalur metabolisme. Namun, karena adanya lipoxygenase pada kedelai, asam linoleat membuat minyak kedelai rentan terhadap rancidification. Komponen minor dari



minyak kedelai mentah adalah fosfolipid, secara kolektif disebut lesitin, serta pitosterol, dan tokoferol.<sup>26</sup>

#### c. Karbohidrat

Karbohidrat kedelai mengandung 35% karbohidrat, yang sebagian besar adalah nonstarch polisakarida. mengandung oligosakarida seperti, stachyose (4%), dan raffinose (1,1%). Stachyose adalah tetraose dengan struktur galactosegalactose-glucose-fructose, sementara raffinose adalah triose dengan struktur galaktosa-glukosa-fruktosa. Polisakarida tersusun terutama serat makanan yang tidak larut.<sup>26</sup>

#### d. Vitamin dan Mineral

Kedelai adalah sumber vitamin B yang lebih baik dibandingkan dengan sereal, meskipun tidak mengandung B12 dan vitamin C. Minyak Kedelai juga mengandung tokoferol yang merupakan antioksidan alami yang sangat baik. Minyak kedelai mengandung  $\alpha$ -tocopherol,  $\beta$ -tocopherol,  $\gamma$ -tocopherol, dan  $\delta$ -tocopherol dalam jejak jumlah (mg / kg). Kedelai juga mengandung mineral ~ 5% [3]. Itu relatif kaya di K, P, Ca, Mg, dan Fe.<sup>26</sup>

#### e. Isoflavon

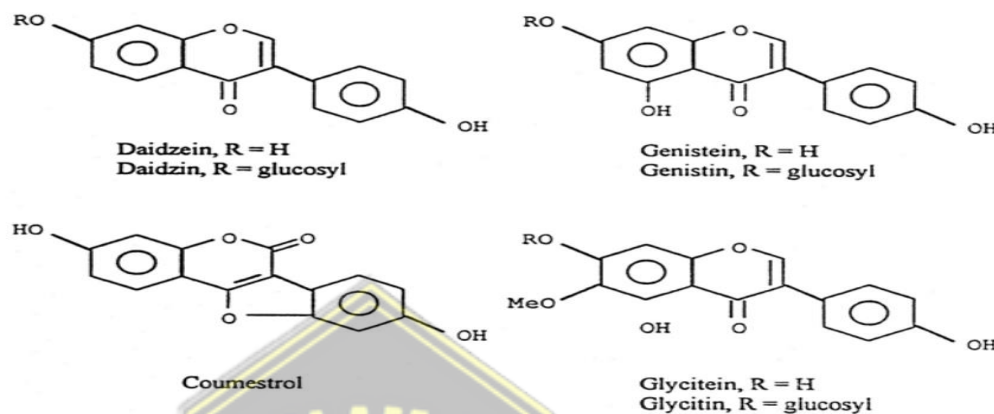
Kedelai adalah sumber yang paling melimpah isoflavon (hingga 3 mg / g berat kering) di alam. Kedelai mengandung

tiga jenis aglikon isoflavon , daidzein, genistein dan glycitein; masing-masing hadir dalam tiga bentuk glikosidik selain bentuk aglikon mereka. Daidzein, genistein dan glikosida mereka berkontribusi > 90% dari total isoflavon; sedangkan glycitein dan glikosidanya hadir sebagai komponen minor (<10%)<sup>26</sup>

Isoflavonoid adalah salah satu kelas flavonoid yang umum ditemukan pada kacang-kacangan, terutama pada famili *Leguminosae* subfamili *Papilionoideae*. Flavonoid merupakan kumpulan zat polifenolik pada tumbuhan. Berdasarkan struktur kimianya, flavonoid dikategorikan menjadi flavonol, flavon, flavanon, isoflavonoid, katekin, antosyanidin, dan khalkon. Hingga saat ini, telah teridentifikasi 2400 isoflavonoid dari 300 jenis tumbuhan. Sumber isoflavonoid utama berasal dari kedelai. Tingkat asupan isoflavonoid bergantung pada konsumsi kedelai, dengan rata-rata populasi Jepang mengonsumsi 30-50 mg isoflavonoid setiap harinya, sedangkan populasi negara barat hanya 3-5 mg per hari <sup>27</sup>

Isoflavonoid sebagai zat fitoestrogen dari polifenol merupakan flavonoid paling aktif pada kedelai . Isoflavonoid memiliki mekanisme aksi dan fungsi hampir serupa dengan hormon estrogen. Secara struktural, isoflavonoid merupakan senyawa heterosiklik yang mengandung 3-fenilkroman terhidroksilisasi pada posisi 4 dan 7. Struktur isoflavonoid yang menyerupai estrogen menyebabkan isoflavonoid memiliki potensi protektif terhadap kanker yang berhubungan dengan hormon seperti kanker payudara, endometrium, dan

prostat. Isoflavonoid juga memiliki properti antioksidan yang berperan dalam modulasi imun dan menurunkan risiko penyakit kronis .<sup>28</sup>



Gambar 2 Struktur kimiawi isoflavonoid kedelai.<sup>29</sup>

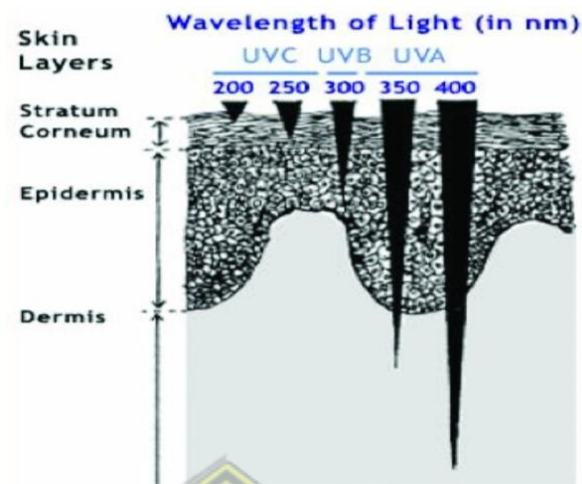
Kadar isoflavonoid pada kedelai dipengaruhi oleh bagian tanaman dan fase pertumbuhan. Kandungan isoflavonoid pada kecambah lebih tinggi dibandingkan biji kedelai itu sendiri, dengan perbedaan kadar isoflavonoid dapat mencapai 20-50% setelah 24 jam germinasi. Kecambah kedelai mengakumulasi isoflavonoid glisitein dalam jumlah besar pada hipokotil, sedangkan pada bagian daun tersusun atas daidzein dan genistein. Selain itu, koumestrol dan glukosida juga ditemukan pada bungkus biji kedelai. Proses perkecambahan meningkatkan kandungan fenolik dan flavonoid total hingga 2 kali lipat setelah germinasi selama 120 jam .<sup>30</sup>

## 2.4 Sinar Ultraviolet

Sinar UV adalah radiasi non-ionisasi pada spektrum elektromagnetik dengan panjang gelombang antara 100-400 nm. Radiasi sinar ultraviolet terdiri atas tiga tipe yaitu:

- 1) Ultraviolet C (100-290 nm) yang sebagian besar dihambat oleh lapisan ozon, sehingga efek di kulit cukup kecil
- 2) Ultraviolet B (290-320 nm) yang dapat menembus sampai lapisan epidermis dan bertanggung jawab atas terjadinya eritema akibat terbakar sinar matahari dan mutasi di keratinosit.
- 3) Ultraviolet A (320-400 nm), merupakan tipe yang menembus lebih dalam lagi sampai ke dermis dan menyebabkan penuaan kulit serta pigmentasi yang berkepanjangan.

Sinar UVA memiliki gelombang paling panjang sehingga dapat menembus kulit hingga lapisan dermis. Sinar UVA dapat dibagi menjadi UVA I (320-400 nm) dan UVA II (320-340 nm), Sinar UVA memencar sepanjang hari dari pagi hingga sore. Sinar UVB hanya menjangkau lapisan epidermis saja, namun memiliki intensitas lebih tinggi dibandingkan UVA terutama pada siang hari (Gambar 3).<sup>17</sup>



Gambar 3 Ilustrasi penetrasi berbagai gelombang UV ke lapisan kulit manusia.<sup>31</sup>

Sinar matahari merupakan sumber utama sinar UV. Spektrum dan intensitas radiasi UV yang luas disebabkan oleh suhu tinggi permukaan matahari. Ketika sinar matahari mencapai atmosfer bumi, maka sinar UV akan diabsorpsi oleh lapisan ozon dan menyebar. Lapisan ozon mampu mencegah sinar UV dengan panjang gelombang <290 nm, sehingga bumi hanya terpapar radiasi UV dengan panjang gelombang 290-400 nm. Oleh karena itu, sinar UVC tidak perlu diwaspadai karena dapat dihalangi oleh sinar ozon dan tidak mencapai permukaan bumi, sehingga proteksi dari sinar UV hanya mencakup UVA dan UVB.<sup>32</sup>

Tingkat paparan radiasi sinar UV bergantung pada beberapa faktor. Elevasi matahari, yaitu ukuran ketinggian matahari, berbanding lurus dengan tingkat radiasi UV. Garis lintang bumi memengaruhi sinar UV, di mana tingkat radiasi semakin tinggi mendekati ekuator. Sinar UV juga meningkat seiring ketinggian daratan karena udara semakin menipis sehingga sinar UV yang terserap semakin sedikit. Adanya permukaan reflektif di bumi seperti air, pasir, dan salju dapat memantulkan sinar UV sehingga meningkatkan tingkat radiasi. Seiring

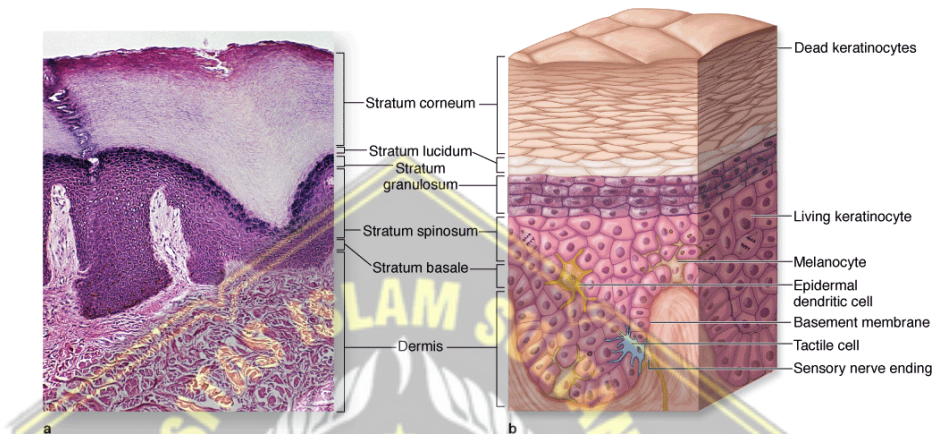
dengan berjalannya waktu, terjadi perubahan iklim yang disertai penipisan lapisan ozon. Oleh karena itu, tingkat paparan radiasi sinar UV meningkat setiap tahunnya.<sup>32</sup>

Dampak biologis sinar UV bergantung pada panjang gelombang radiasi. Salah satu manfaat sinar UV adalah sebagai terapi defisiensi vitamin D, *seasonal affective disorder*, psoriasis, sarkoidosis, mikosis fungoides, dan berbagai kondisi kulit lainnya. Sinar UVB dapat membantu proses konversi 7-dehidrokolestrol menjadi vitamin D yang aktif (kolekalsiferol). Akan tetapi, paparan sinar matahari kronis dapat menimbulkan penuaan kulit, menurunkan respons imun terhadap patogen, dan meningkatkan risiko pembentukan neoplasma. Pada tingkat molekular, radiasi UV membentuk pirimidine dimer kovalen. Apabila pada proses perbaikan *deoxyribonucleic acid* (DNA) tidak dapat mengena dimer, maka terjadi mutasi yang tidak dapat diperbaiki dalam siklus sel. Mutasi gen yang mencapai siklus sel dan tidak diperbaiki oleh jalur p53 akan menimbulkan transformasi maligna.<sup>14</sup>

## 2.5 Kulit

Kulit adalah membran lapisan ganda yang menutupi bagian eksterior tubuh. Peran utama kulit adalah menjadi perlindungan mekanik terhadap lingkungan luar. Kulit tersusun atas epidermis dengan susunan selular berlapis dan dermis yang berisi jaringan ikat. Epidermis tersusun atas keratinosit dan memiliki ketebalan sekitar 0,05 mm-0,1 mm. Dermis mengandung kolagen, jaringan elastis, dan zat-zat lainnya dengan ketebalan bervariasi sesuai lokasi. Ketebalan dermis beragam dari 0,5 pada kelopak mata hingga lebih dari 5 mm di bagian punggung.

Struktur dasar epidermis terdiri atas 4 lapis, yaitu stratum basal, stratum spinosum, stratum granulosum, dan stratum korneum. Lapisan tambahan berupa lapisan eosinofilik aseluler yang dikenal sebagai stratum lusidum dapat ditemui pada telapak tangan dan kaki (Gambar 4)<sup>31</sup>



Gambar 4 Lapisan kulit normal, a) tampilan mikroskopik histologi jaringan kulit, (b) skema ilustrasi lapisan kulit<sup>33</sup>

Stratum basal, atau biasa dikenal sebagai stratum germinativum, adalah lapisan terdalam yang terpisah dari dermis dan dibatasi oleh membrana basalis. Stratum basal menempel pada membrana basalis melalui hemidesmosom. Sel pada stratum basal berbentuk kuboid hingga kolumnar, aktif melakukan mitosis untuk memproduksi keratinosit dan melanosit. Stratum spinosum terdiri atas 8-10 lapis sel polihedral ireguler dengan prosesus sitoplasmik. Prosesus sitoplasmik akan menonjol keluar, membentuk ikatan dengan sel di sekitarnya menggunakan desmosom. Sel dendritik juga dapat ditemukan pada stratum spinosum. Stratum granulosum tersusun atas 3-5 lapis sel berbentuk wajik dengan granul keratohyalin dan lamelar. Granul keratohyalin berisi prekursor keratin, sedangkan granul lamelat berisi glikolipid. Stratum lusidum hanya ditemukan pada lapisan kulit yang tebal seperti telapak tangan dan kaki. Stratum lusidum tersusun atas 2-3

lapisan tipis transparan yang berisi eleidin berupa transformasi dari keratohyalin. Lapisan paling atas yaitu stratum korneum tersusun atas 20-30 lapis berisi sel tanduk dari keratinosit yang sudah mati, atau dikenal sebagai sel skuamous anukleus.<sup>34</sup>

Lapisan dermis terhubung dengan epidermis pada bagian membrana basalis. Dermis tersusun atas dua lapisan jaringan ikat yaitu lapisan papiler dan retikuler. Lapisan papiler di bagian atas tersusun atas jaringan ikat longgar dan bersentuhan dengan epidermis, sedangkan lapisan retikuler di bagian dalam tersusun atas jaringan ikat tebal dan padat dengan selularitas minimal. Dermis berisi kelenjar keringat, rambut, folikel rambut, otot, neuron sensoris, dan vasa darah. Setelah dermis terdapat lapisan hipodermis atau fascia subkutan. Hipodermis merupakan lapisan terdalam kulit yang berisi lobul adiposa dengan folikel rambut, neuron sensoris, dan vasa darah.<sup>34</sup>

## 2.6 Penuaan Kulit

Penuaan kulit merupakan proses menurunnya fungsi dan kapasitas kulit secara progresif. Terdapat dua faktor yang berperan pada terjadinya penuaan kulit, yaitu faktor intrinsik dan ekstrinsik. Faktor intrinsik antara lain genetik, metabolisme sel, dan hormonal sedangkan yang termasuk faktor ekstrinsik antara lain radiasi ultraviolet, inframerah, dan karsinogen lingkungan seperti polusi udara. Secara kumulatif faktor tersebut mengubah struktur dan fungsi setiap lapisan kulit secara progresif yang akhirnya mengubah tampilan kulit. Penuaan intrinsik merupakan proses yang tidak terelakan dan pada proses ini kulit mengalami



perubahan morfologi dan fisiologi seperti kering, keriput, kendur, dan proses penyembuhan luka menjadi lebih lambat. Pada penuaan ekstrinsik, kulit mengalami kerut dalam, kehilangan elastisitas, dan permukaan kulit menjadikasar. Berbagai tumor jinak hingga lesi prekanker kulit juga dapat terjadi akibat penuaan ekstrinsik.<sup>35</sup>

### 2.6.1 Penuaan Intrinsik

Pada penuaan kulit secara instrinsik, lapisan epidermis menipis sehingga daerah kontak permukaan dermis dan epidermis menipis dan pertukaran nutrisi ke epidermis berkurang. Akibatnya kulit mudah lecet dan robek setelah trauma ringan. Kemampuan proliferasi sel basal semakin menurun. Di lapisan dermis, jumlah sel mast dan fibroblas lebih sedikit dibandingkan di kulit muda dan hal tersebut juga terjadi pada serat kolagen serta serat elastin.<sup>35</sup>

Produksi prokolagen tipe 1 di kulit menua berkurang karena penurunan sinyal TGF- $\beta$ /Smad dan penurunan faktor pertumbuhan jaringan ikat. Terjadi degenerasi di komponen matriks ekstraseluler (elastin, kolagen, fibrilin) dan di oligosakarida yang memengaruhi kemampuan kulit menahan air.<sup>36</sup> Pada penuaan intrinsik terjadi penipisan kulit, kerutan halus, kulit kering, kulit kendur, dan tumor jinak kulit: keratosis seboroik, *cherry angioma*.<sup>35</sup>

### 2.6.2 Penuaan Ekstrinsik

Pajanan radiasi ultraviolet dari matahari merupakan faktor utama penuaan ekstrinsik sehingga disebut *photo aging* yang mengacu pada efek pajanan sinar ultraviolet dalam waktu lama.<sup>37</sup> Pada penuaan ekstrinsik lapisan epidermis menebal, sedangkan pada penuaan intrinsik, lapisan epidermis menipis. Stratum korneum menebal karena kegagalan degradasi korneosit dari desmosom. Diferensiasi keratinosit dari epidermis juga terganggu oleh sinar ultraviolet. Ekspresi kolagen tipe VII dalam keratinosit menurun di area terpajan ultraviolet. Kolagen tersebut merupakan penahan fibril di persimpangan dermis dan epidermis. Berkurangnya produksi kolagen tipe VII berkontribusi terhadap pembentukan keriput karena hubungan dermis dan epidermis melemah.<sup>36</sup> Pada penuaan ekstrinsik terdapat kerut dalam, kulit longgar, kulit kasar, tipe kulit Fitzpatrick I, II: kerut halus, lesi kulit prakanker (aktinik keratosis) dan kanker kulit, sedangkan pada tipe kulit Fitzpatrick III, IV: kulit hipertrofi, kerut dalam, lentigo.<sup>38</sup>

Elastosis adalah karakteristik penuaan kulit berupa penumpukan jaringan elastin abnormal di lapisan dermis. Sinar ultraviolet meningkatkan ekspresi elastin empat kali lipat sehingga menimbulkan elastosis. Penurunan angiogenesis, penyimpangan ekspresi molekul adhesi, dan kerusakan fungsi vasodilatasi menyebabkan disfungsi edotel sehingga fungsi mikrovaskular menurun.<sup>36</sup>

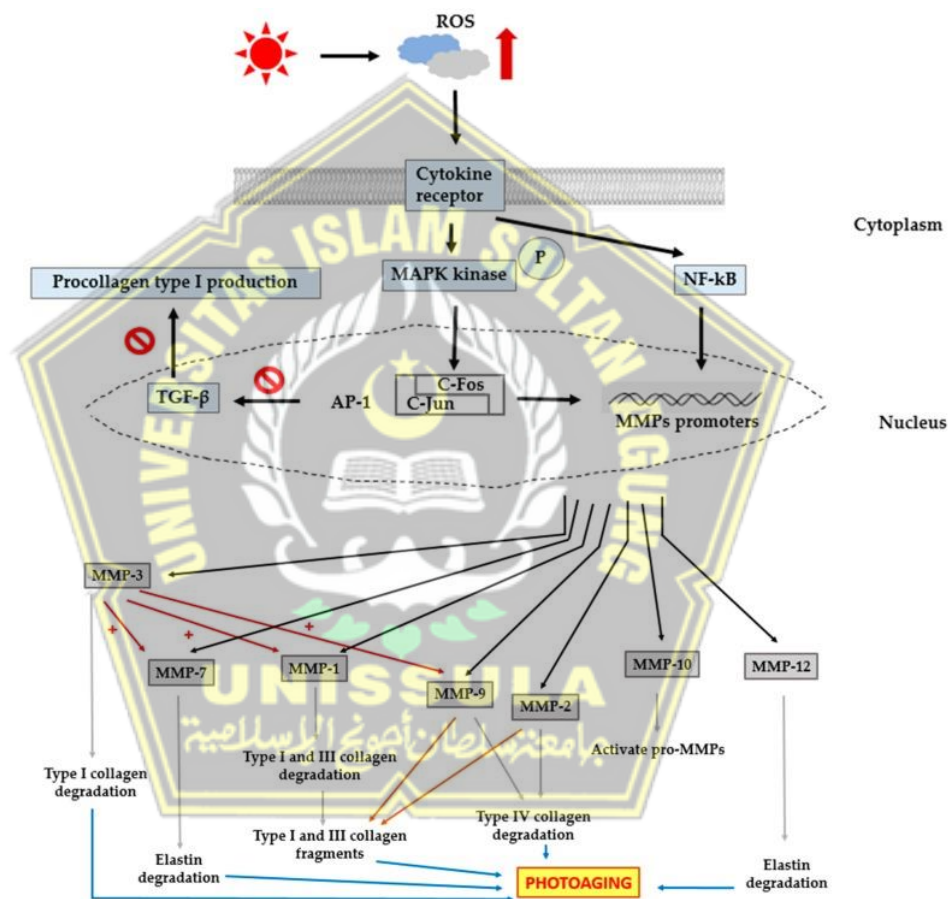
Mekanisme molekular yang mendasari penuaan kulit adalah radiasi sinar UV. Pada saat pajanan, sinar UV berinteraksi dengan kromofor yang

sesuai; dapat berupa agen eksogen atau endogen seperti porfirin, flavin, basa DNA, asam amino, dan turunannya seperti asam urokanat. Hasil interaksi berupa kerusakan kromofor secara langsung atau sebagai *photosensitizer* pembentukan *reactive oxygen species* (ROS). Peningkatan konsentrasi ROS akan menginisiasi jalur sinyal transduksi melalui aktivasi reseptor permukaan sel termasuk reseptor untuk faktor pertumbuhan epidermal (EGF), interleukin-1 (IL-1), insulin, faktor pertumbuhan keratinosit (KGF), dan TNF- $\alpha$ . Aktivasi reseptor permukaan sel dapat menstimulasi kinase intraselular (p38, c-jun) yang meningkatkan regulasi serta aktivasi faktor transkripsi nuklir dan AP-1. Aktivasi AP-1 menghambat efek transformasi faktor pertumbuhan- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) yang menghasilkan gen kolagen.<sup>39</sup>

Radiasi UV merupakan faktor utama penuaan ekstrinsik, sehingga penuaan ekstrinsik disebut juga sebagai *photoaging*. Meskipun gelombang UVB yang mencapai bumi lebih sedikit dibandingkan UVA, radiasi UVB memiliki energi lebih besar.<sup>30</sup> *Photoaging* melibatkan perubahan kutaneus menjadi berkeriput, dispigmentasi tidak merata, telangiektasia, rapuh, dan kasar. *Photoaging* disebabkan oleh ketidakseimbangan antara akumulasi dan degradasi komponen matriks ekstraseluler yang memberikan dukungan fungsional dan struktural jaringan kulit.<sup>40</sup>

Radiasi sinar UV, baik UVA maupun UVB, mengganggu keseimbangan reduksi pada sel kulit manusia karena produksi ROS berlebih, yang mengganggu sistem antioksidan seperti tioredoksin dan glutathion-glutathion peroksidase. Stres oksidatif akan menyebabkan

modifikasi lipid, protein, dan DNA. Protein yang mengalami kerusakan oksidatif akan didegradasi oleh sistem proteolitik sel, sehingga terjadi peningkatan kejadian apoptosis. Selain itu, stres oksidatif juga berperan dalam penyakit inflamasi kronis, sehingga paparan sinar UV dapat mengakibatkan deteriorasi kulit yang terlihat.<sup>41</sup>



Gambar 5 Skema proses photoaging<sup>19</sup>

Radiasi UVB yang menginduksi stres oksidatif pada kulit akan berujung pada kerusakan genetik persisten, ditandai dengan peningkatan ekspresi *activator protein* (AP)-1 dan MMP. Radiasi UV menginduksi ROS intrasel seperti oksigen tunggal ( $^1\text{O}_2$ ), anion superoksida ( $\text{O}_2^-$ ),

hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), dan hidroksil ( $OH^-$ ). Radikal ROS akan berperan sebagai perantara sekunder untuk mengaktivasi famili *mitogen-activated protein kinase* (MAPK). MAPK adalah famili Ser/Thr kinase yang tersusun atas *extracellular signal-regulated kinase* (ERK), p38, dan c-Jun NH2-terminal kinase (JNK). ERK mentimulasi ekspresi c-Fos, sedangkan aktivasi p38 dan JNK krusial untuk ekspresi c-Jun. c-Jun akan bergabung dengan c-Fos untuk membentuk faktor transkripsi AP-1, yang memiliki peran esensial dalam regulasi transkripsi MMP-1, MMP-3, dan MMP-9.<sup>41</sup>

## 2.7 Efek Sinar UV terhadap MMP-1 dan IL-6

Pada kulit, keratinosit epidermis dan fibroblas dermis mensekresikan MMP-1. Radiasi UV menginduksi peningkatan sintesis MMP-1 oleh fibroblas dermis melalui pembentukan ROS. Radiasi UV menginduksi radikal ROS untuk berperan sebagai perantara sekunder untuk mengaktivasi famili MAPK yang berujung pada kerusakan genetik persisten, ditandai dengan peningkatan ekspresi AP-1 dan MMP. Radiasi UV juga mampu menurunkan ekspresi inhibitor MMP dalam degradasi kolagen, yaitu *tissue inhibitors of matrix metalloproteinase* (TIMP).<sup>40</sup>

AP-1 menginhibisi pensinyalan *transforming growth factor- $\beta$*  (TGF- $\beta$ ), regulator utama untuk produksi prokolagen tipe I pada kulit (Gambar 5). Gangguan jalur TGF- $\beta$  menyebabkan penurunan sintesis prokolagen. Salah satu faktor transkripsi penting lainnya adalah NF- $\kappa$ B yang teraktivasi dengan radiasi sinar UV. NF- $\kappa$ B adalah faktor transkripsi universal yang meregulasi ekspresi

*growth factor*, kemokin, sitokin, dan molekul adhesi sel. Adanya ROS menginduksi aktivasi transkripsi NF-kB dan regulasi gen MMP. Faktor NF-kB telah dilaporkan terlibat dalam peningkatan MMP-1 dan MMP-3 pada fibroblas<sup>16</sup>

Iradiasi sinar UV meningkatkan produksi sitokin proinflamasi, seperti Interleukin-6, interleukin-1B dan TNFa. Sinar UV juga meningkatkan ekspresi COX-2 yang menghasilkan prostaglandin E2 dan iNOS yang menghasilkan Nitric Oxida. Ini merupakan faktor inflamasi yang dapat juga menyebabkan aging skin seperti keriput. Seiring dengan pertambahan usia dan penuaan eksternal dari sinar UV, IL-6 akan meningkat. Peningkatan kadar IL-6 terkait usia diakibatkan stimulasi produksi IL-6 terkait peningkatan radiasi bebas, salah satunya paparan sinar UV. Penyebab lainnya adalah terdapat gangguan regulasi pada ekspresi gen yang mengatur produksi IL-6. Diamati peningkatan ekspresi IL-6 pada bagian dasar keriput kulit, sehingga berkontribusi terhadap pembentukan keriput dan penuaan kulit<sup>43</sup>

## **2.8 Efek ekstrak kacang kedelai (soybean) terhadap MMP-1 dan IL-6**

Isoflavonoid, salah satu jenis flavonoid utama pada kedelai, memiliki properti antioksidan dan antiinflamatori. Inflamasi kronis pada kulit telah dikaitkan dengan penuaan dan tumor kulit. Sinar UV memicu ekspresi COX-2 dan terjadi inflamasi, edema, proliferasi keratinosit, hiperplasia epidermis, serta kerusakan oksidatif DNA. Pemberian ekstrak kacang kedelai secara topikal sebelum diberikan paparan UVB menurunkan ekspresi COX-2. Isoflavonoid genistein dapat mengaktivasi *peroxisomal proliferator-activated receptor-γ* (PPAR- $\gamma$ ) yang menghambat adhesi monosit ke sel endotel vaskular<sup>16</sup>

Genistein, isoflavonoid utama pada ekstrak kedelai, dilaporkan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seperti superoksida dismutase, katalase, dan glutathione reduktase. Genistein juga telah dilaporkan menghambat tirosin kinase dan topoisomerase. Antioksidan pada genistein mampu mencegah dampak negatif ROS dari sinar UV. Melalui mekanisme tersebut, genistein menghambat penuaan ekstrinsik yang dipicu oleh UVB. Isoflavonoid pada ekstrak kedelai ditemukan mampu menekan inflamasi yang dipicu oleh radiasi sinar UVB melalui supresi MMP-1. Penelitian pada mencit yang diberikan paparan sinar UVB melaporkan jumlah sel inflamatori dan hiperplasia epidermis lebih tinggi dibandingkan mencit tanpa paparan sinar UVB. Setelah diberikan ekstrak kedelai per oral, morfologi sel kulit menunjukkan perbaikan dibandingkan mencit yang tidak menerima ekstrak kedelai. Hal ini juga merupakan efek supresi proinflamasi, dimana isoflavone yang terdapat pada kacang kedelai dapat menekan sekresi mediator seperti IL-6, nitric oxide (NO) dan prostaglandin E2. Sehingga dapat dikonfirmasi bahwa isoflavon pada kacang kedelai memiliki efek positif pada kulit

Kacang kedelai memiliki peran yang menarik dalam mengatur polarisasi makrofag dari M1 yang bersifat pro-inflamasi ke M2 yang bersifat anti-inflamasi, berujung pada penurunan tingkat MMP dan IL-6. Kandungan fitokimia kacang kedelai, terutama isoflavonoid seperti genistein dan daidzein, telah terbukti memiliki kemampuan dalam mempengaruhi diferensiasi dan aktivitas makrofag.<sup>46,47</sup> M1 makrofag dikaitkan dengan produksi IL-6 dan aktivasi MMP, yang mengarah pada peradangan dan degradasi kolagen pada kulit.<sup>48</sup> Genistein

dalam kacang kedelai dikenal karena kemampuannya dalam memicu pergeseran makrofag dari M1 ke M2, yang memiliki sifat anti-inflamasi dan mendukung perbaikan jaringan, sementara daidzein juga berkontribusi dalam menurunkan produksi IL-6.<sup>49</sup> Dengan demikian, kacang kedelai dapat memainkan peran penting dalam meredakan peradangan dan menekan produksi MMP serta IL-6 dengan mengatur polarisasi makrofag, mempromosikan respons yang lebih seimbang dan mendukung kesehatan jaringan.





## BAB III

### KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

#### 3.1 Kerangka Teori

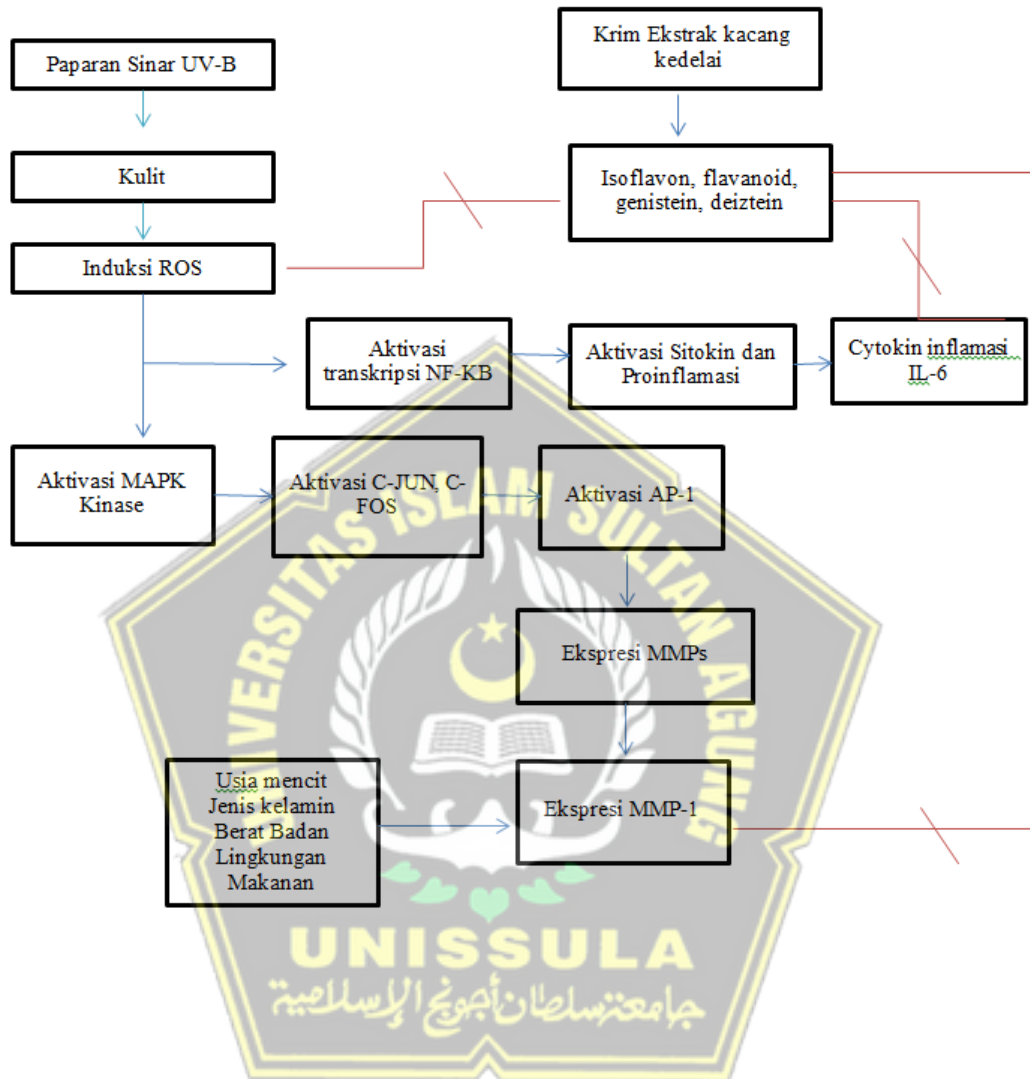
Paparan sinar UV B merupakan faktor utama penuaan yaitu menginduksi peningkatan produksi ROS intrasel .ROS akan berperan sebagai perantara untuk mengaktivasi famili *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) yang berujung pada kerusakan genetik persisten. MAPK adalah famili Ser/Thr kinase yang tersusun atas *extracellular signal-regulated kinase* (ERK), p38, dan c-Jun NH2-terminal kinase (JNK). ERK menstimulasi ekspresi c-Fos, sedangkan aktivasi p38 dan JNK krusial untuk ekspresi c-Jun. c-Jun akan bergabung dengan c-Fos untuk membentuk faktor transkripsi AP-1, yang memiliki peran esensial dalam regulasi transkripsi MMP-1, MMP-3, dan MMP-9 . Dimana MMP-1 berperan mendegradasi kolagen. Sinar UVB juga akan mengaktifkan NF-κB yang akan mengaktifkan sitokin-sitokin proinflamasi seperti IL-1, TNFα , IL-6, dan IL-8 sehingga pada akhirnya translokasi NF-Kb pada nucleus akan mengaktifkan transkripsi sitokin inflamasi seperti IL-6. Aktivasi sitokin ini akan mempengaruhi proses inflamasi yang dapat mengakibatkan photoaging.

*Photoaging* melibatkan perubahan kutaneus menjadi berkeriput, dispigmentasi tidak merata, erymatous, telangiektasia, rapuh, dan kasar.

Penuaan kulit disebabkan oleh ketidakseimbangan antara akumulasi dan degradasi komponen matriks ekstraseluler yang memberikan dukungan fungsional dan struktural jaringan kulit.

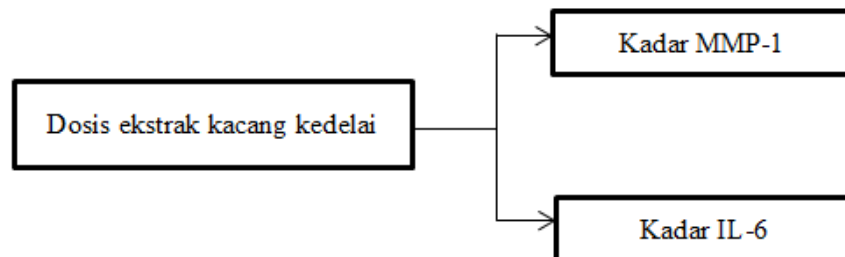
Ekstrak *soybean* diketahui mengandung beberapa zat aktif yang berperan sebagai antiinflamatori dan antioksidan yang mampu menghambat produksi ROS oleh sinar UVB dan jalur inflamasi yang dimediasi tirosin kinase. Penelitian terdahulu menyatakan bahwa kacang kedelai mengurangi efek negatif proses penuaan dan kerusakan akibat sinar UV B dan bertindak sebagai antiinflamasi dan antioksidan.





Bagan 1 Kerangka Teori

### 3.2 Kerangka konsep



Bagan 2 Kerangka Konsep

### 3.3 Hipotesis

Terdapat pengaruh pemberian krim ekstrak kacang kedelai terhadap kadar MMP-1 dan IL-6 pada Mencit Balb/c yang diinduksi sinar UVB antara kelompok perlakuan dibanding kontrol.



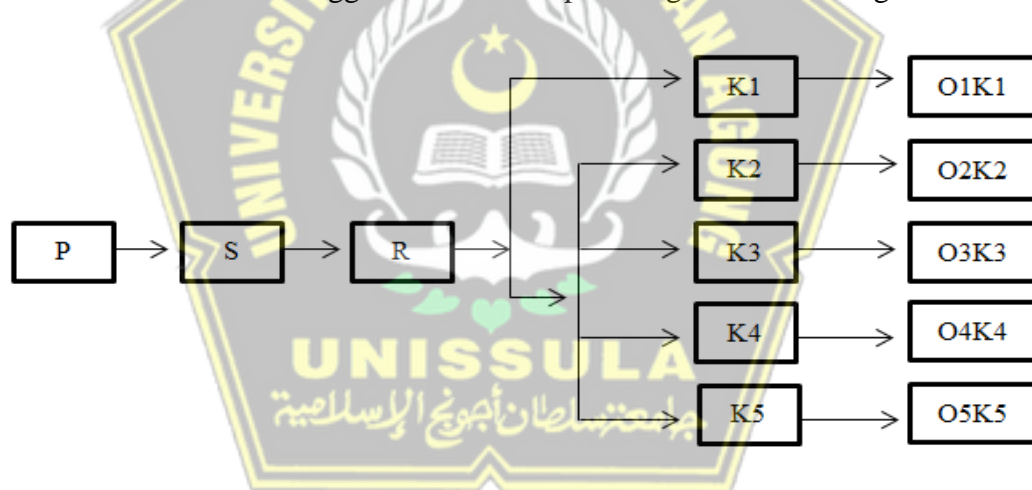
## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vivo* dengan menggunakan rancangan penelitian *Post Test only Control Group Design* dengan metode rancang acak menggunakan hewan coba mencit sebagai objek penelitian yang dipaparan sinar UVB.

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok dengan rincian sebagai berikut:



Bagan 3 Rancangan Penelitian

Keterangan :

P = Populasi , S = Sampel , R = Random

K1 = kelompok sehat, tidak diberi perlakuan

K2 = Kelompok kontrol negatif (subjek hanya dipapar sinar UV

K3 = Kelompok kontrol positif (subjek hanya diolesi basis krim dan dipapar sinar UV-B)

K4 = Kelompok perlakuan 1 (subjek diolesi krim ekstrak kacang kedelai 10% dan dipapar sinar UV- B)

K5 = Kelompok perlakuan 2 (subjek diolesi krim ekstrak kacang kedelai 20% dan dipapar sinar UV- B)

O1K1 = Observasi IL-6 dan kadar MMP-1 pada kelompok sehat

O2K2= Observasi IL-6 dan kadar MMP-1 pada kelompok kontrol negatif

O3K3 = Observasi IL-6 dan kadar MMP-1 pada kelompok kontrol positif

O4K4= Observasi IL-6 dan kadar MMP-1 pada kelompok perlakuan 1

O5K5= Observasi IL-6 dan kadar MMP-1 pada kelompok perlakuan 2

## 4.2 Variabel penelitian dan definisi operasional

### 4.2.1 Variabel penelitian

Variabel Bebas

Ekstrak kacang kedelai

Variabel Tergantung

Kadar MMP-1 dan Interleukin-6

Variabel Prakondisi

Sinar UV-B

### Variabel Terkendali

Faktor-faktor yang dikendalikan adalah strain mencit BALB/c, umur, jenis kelamin, berat badan, nutrisi/pakan mencit, kondisi kandang dan lingkungannya (kuatnya cahaya, suhu, kelembaban)

#### 4.2.2 Definisi Operasional Variabel

##### Variabel Bebas ;

##### Ekstrak kacang kedelai

Hasil dari biji kacang kedelai yang kemudian di ekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol dan di kentalkan menggunakan rotary vacuum evaporator. Ekstrak kacang kedelai dibuat dalam sediaan krim dosis 10% dan 20 % dibuat di Laboratorium Kimia FK Unissula Semarang yang diberikan secara topikal pada punggung mencit balb/c yang sudah dicukur.

Satuan : %

Skala rasio

##### Variabel Terikat ;

##### Kadar Interleukin-6

Pemeriksaan kadar IL-6 menggunakan metode enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) yang diukur dengan alat spektrofotometri 450nm . ELISA KIT yang digunakan pada

penelitian adalah bioassay technology laboratory pada hari ke-15.

Satuan : ng/dl

Skala ratio.

Kadar MMP-1

Pemeriksaan kadar MMP-1 menggunakan metode enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) yang diukur dengan alat spektrofotometri 450nm . ELISA KIT yang digunakan pada penelitian adalah bioassay technology pada hari ke-15.

Satuan : ng/dl

Skala ratio.

Variabel Prakondisi

Sinar UV-B adalah jumlah intensitas sinar UV-B yang diberikan berasal dari mesin sinar UV-B tipe narrowband TL- F72-100W/12. Alat ini memancarkan sinar UV-B dengan besar dosis radiasi dapat diukur dengan UVmeter. Paparan sinar UV-B diberikan seminggu 5 kali selama 2 minggu. Dosis paparan sinar UV B diberikan sebanyak 1 MED dan setiap paparan diberikan selama 8 menit dengan jarak penyinaran 20 cm. <sup>45</sup>

### **4.3 Subyek penelitian dan sample penelitian**

#### **4.3.1 Subyek penelitian**



Subyek yang digunakan dalam penelitian ini adalah Mencit BALB/c betina berusia 6-8 minggu, dengan berat 18-35 gram, yang dinyatakan layak digunakan untuk penelitian oleh dokter hewan dari animal house integrated biomedical laboratory, Fakultas kedokteran Universitas Sultan Agung Semarang. Mencit dipelihara di ruangan dengan ventilasi cukup, dengan suhu ruangan 28- 32°C di laboratorium. Mencit diberi makanan pellet dan minuman air putih secukupnya. Sebelum dilakukan perlakuan, mencit diadaptasikan dalam kandang selama 1 minggu.

#### 4.3.2 Sampel Penelitian

##### 4.3.2.1 Kriteria inklusi

- a) Mencit BALB/c
- b) Jenis kelamin betina
- c) Usia 6-8 minggu
- d) Berat badan 18-35 g
- e) Tidak ada kelainan anatomis
- f) Mencit aktif.

##### 4.3.2.2 Kriteria Eksklusi

- a) Memiliki kelainan anatomis.
- b) Sudah pernah digunakan untuk penelitian sebelumnya.
- c) Mencit yang sakit selama masa penelitian.

#### 4.4 Teknik pengambilan sampel penelitian

- Dari populasi mencit BALB/c, diadakan pemilihan sampel berdasarkan kriteria inklusi.
- Dari jumlah sampel yang telah memenuhi syarat, maka pengambilan sample pada penelitian ini dilakukan dengan cara acak atau random sampling allocation.
- Dari sampel yang telah dipilih kemudian dibagi menjadi 5 kelompok secara random yaitu Kelompok kontrol (mencit sehat) , Kontrol negatif (mencit hanya dipapar sinar UV-B sebanyak 6 ekor) dan Kelompok Kontrol positif (mencit hanya diberikan krim dasar tanpa ekstrak kacang kedelai dan dipapar sinar UV-B sebanyak 6 ekor) , Kelompok perlakuan 1 (6 ekor mencit diberikan krim ekstrak kacang kedelai 10% dan dipapar sinar UV-B), Kelompok perlakuan 2 (6 ekor mencit diberikan krim ekstrak kacang kedelai 20% dan dipapar sinar UV-B).

#### 4.5 Besar Sampel

Pada penelitian ini menggunakan mencit betina Balb/c yang berjenis kelamin betina sebagai objek penelitian. Penentuan besarnya sampel  $t$  dihitung dengan menggunakan rumus dari Federer sebagai berikut :

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

t = jumlah perlakuan

n = jumlah replikasi

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok maka sesuai dengan rumus

Federer:

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

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

$$4 (n - 1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 5$$

maka ,Jumlah sampel sebanyak 5 ekor perkelompok perlakuan di kalikan dengan jumlah kelompok perlakuan, untuk menghindari *lost of follow*, maka masing-masing kelompok di tambahkan 1 ekor hewan coba jumlah sampel pada penelitian ini 30 ekor mencit betina BALB/C.

Tiap kelompok ditambah 10% sebagai cadangan ( $10\% \times 6 = 0,6 \approx 1$ ).

Kelompok penelitian terdiri dari:

- Kelompok sehat sebanyak 6
- Kelompok Kontrol negatif hanya dipapar sinar UV-B sebanyak 6 ekor.

- Kelompok Kontrol positif diberikan basis krim tanpa ekstrak kacang kedelai dan dipapar sinar UV-B sebanyak 6 ekor.
- Kelompok Perlakuan masing-masing diberikan krim ekstrak kacang kedelai dengan dosis 10% dan 20% dan dipapar sinar UV-B, dengan jumlah mencit masing-masing sebanyak 6 ekor.

## 4.6 Alat dan Bahan

### 4.6.1 Alat penelitian

10. Alat yang digunakan untuk membuat ekstrak kacang kedelai, yaitu tempat penyimpanan steril, sendok kaca steril, *Vacuum dryer*, rotator evaporator, blender, dan labu erlemeyer.
11. Alat yang digunakan untuk pemeliharaan hewan coba mencit, yaitu kandang dengan kelengkapan tempat makanan dan minum, jarum 26, spuit 1 cc, alat cukur, sarung tangan, tempat fiksasi, dan timbangan analitik.
12. Alat yang digunakan untuk pembuatan preparat, yaitu *objek glass*, kaca penutup, pisau scalpel, pinset, talenan, saringan, *tissue*, *Freezer* (-20<sup>0</sup>C), mesin *microtome*, *waterbath* 46<sup>0</sup>C, mesin *processor* otomatis, mesin *vacuum* dan mesin bloking.
13. Alat yang digunakan untuk ELISA, yaitu *assay plate*, mikropipet *single*, mikropipet multipel, inkubator, tabung eppendorf, vorteks.

#### 4.6.2 Bahan penelitian

1. Bahan krim dasar
2. Krim ekstrak kacang kedelai dengan dosis 10 %; 20 %
3. Lampu UV-B tipe *Narrowband* TL- F72-100W/12
4. Pengukur dosis radiasi (Dosimetri)
5. *Standard solution*
6. *Assay diluent* A dan B
7. *Wash buffer concentrate*
8. *Substrate solution* A dan B
9. *Stop solution*
10. *Plate sealer*
11. *Distilled water*

#### 4.7 Cara Penelitian

##### 4.7.1 Ethical clearance

Penelitian diawali dengan pengajuan ethical clearance yang diajukan kepada komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung Semarang setelah proposal penelitian disetujui oleh pembimbing dan penguji

##### 4.7.2 Penetapan dosis

Sebelum dilakukan penelitian, terlebih dahulu ditentukan dosis yang akan digunakan untuk penelitian. Penelitian sebelumnya menggunakan ekstrak kacang kedelai krim dengan dosis 4 %, 8 % dan 16% menunjukkan dengan pemberian dosis topical maka terdapat perbaikan pada kolagen kulit tetapi kurang optimal. Sehingga penelitian ini menggunakan dosis 10% dan 20% pada pemberian krim ekstrak kacang kedelai.

#### 4.7.3 Pembuatan Krim

Bahan-bahan dalam fase minyak ; asam stearat, triethanolamin, glycerin, potasium hidroksida dan aquadest, di timbang masing-masing bahan lalu di masukan ekstrak kacang kedelai ke dalam mortir dan di tambahkan tawar secukupnya sambil di aduk sampai homogen, kemudian tambahkan krim dasar M/A (vanishing cream), aduk rata lalu masukan pot.

#### 4.7.4 Penyinaran UV-B pada subyek penelitian

Penyinaran UV-B menginduksi terjadinya photoaging ditandai awal dengan kulit terlihat *erymatouse* pada area yang dipapar sinar UVB dan tampak kerutan yang semakin dalam. Berikut tahapannya yaitu;

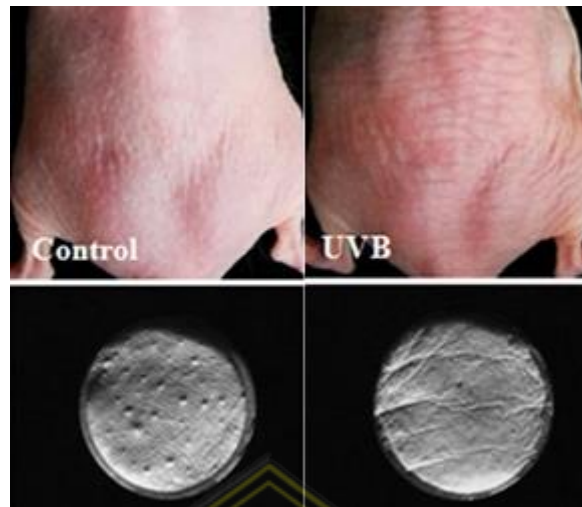
1. Mencit babl/c yang sudah diadaptasi 7 hari
2. Mencit dibius dengan campuran ketamine (60mg/kgbb) dan xylasine (20mg/kgbb) secara intramuscular sebanyak 0,5 ml.
3. Rambut pada bagian punggung di cukur dengan ukuran 2 x 3 cm

4. Punggung mencit disinari UV-B dengan jarak 20 cm dengan minimal erythema dose (1 MED 150mJ/cm<sup>2</sup>) selama 8 menit setiap 5x dalam seminggu selama 14 hari
5. Pemberian ekstrak kacang kedelai dilakukan pada jam yang sama setiap pukul 10 pagi.
6. Mencit babl/c ; kelompok kontrol positif kemudian di beri perlakuan secara topikal menggunakan basis krim, kelompok perlakuan 1 dan 2 diberikan secara topical menggunakan ekstrak kacang kedelai dosis 10% dan 20% satu kali sehari selama 14 hari setelah dilakukan penyinaran UV-B

#### 13.1.4 Validasi hewan coba

##### a. Makroskopis

Validasi Dilakukan penyinaran sinar UV dengan dosis minimal 1 MED dengan jarak 20 cm selama 8 menit 5 x seminggu hingga tampak perubahan kulit di punggung mencit yang sudah di cukur akibat photodamage dari sinar UVB dan di lakukan observasi dengan melihat secara langsung ke kulit bagian epidermis dan dermis yaitu warna kemerahan erymatous dan ketebalan kerutan,



Gambar 6 Validasi hewan coba : wrinkle dan erymatous palupe pada mencit yang di papar sinar UV dan yang tidak di papar sinar UV pada hari ke-14. <sup>45</sup>

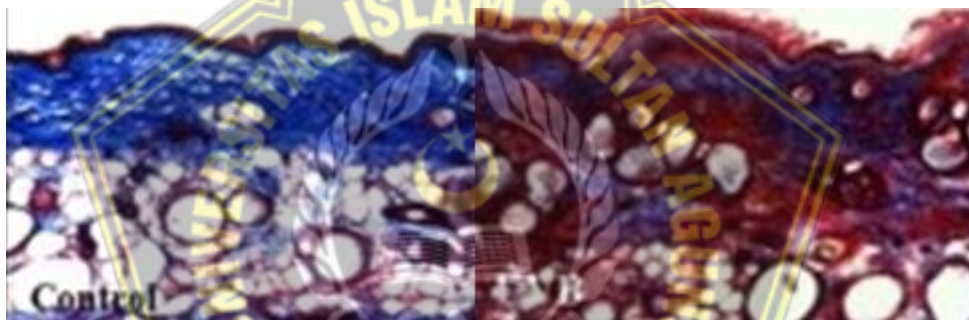
b. Histopatology ; Masson Trichome

Pengecatan dilakukan dengan menggunakan protokol pengecatan masson trichome dengan tahapan sebagai berikut;

1. Deparafinisasi slide jaringan
2. Panaskan cairan bouin ke 54-64°C
3. Inkubasi slide dalam Bouin's Fluid yang dipanaskan selama 60 menit dan didinginkan selama 10 menit
4. Bilas dengan air
5. Inkubasi slide di Hematigoksin Besi Weigert selama 5 menit
6. Bilas dengan air
7. Inkubasi slide dalam larutan Biebrich Scarlet / Acid Fuchsin selama 15 menit



8. Bilas dengan air
9. Inkubasi dalam larutan asam fosfomolibdat / fosfotungstat selama 10-15 menit
10. Inkubasi slide dalam larutan Aniline Blue selama 5-10 menit
11. Bilas dengan air
12. Inkubasi slide dalam larutan asam asetat selama 3-5 menit
13. Dehidrasi dan pasang desk glass



Gambar 7 Pengecatan Masson Trichome pada mencit yang di papar sinar UV dan yang tidak di papar sinar UV

#### 4.7.5 Cara Penelitian dilakukan sebagai berikut :

1. Persiapkan 36 ekor mencit betina *strain* BALB/C usia 6-8 minggu dengan berat 18–35 gram yang telah diadaptasi selama 7 hari
2. Cukur punggung mencit seluas 2x3 cm
3. Lakukan penyinaran pada punggung mencit dengan sinar UV-B dengan dosis minimal 1 MED dengan jarak 20 cm selama 8 menit.

4. Berikan perlakuan pada mencit sesuai kelompoknya (setiap kelompok 6 mencit), kontrol negatif: tidak diberikan perlakuan; kontrol positif: diolesi basis krim pada area yang dicukur, perlakuan 1: diolesi krim ekstrak kacang kedelai 10%, perlakuan 2: di olesi krim ekstrak kacang kedelai 20%, dan
5. Ulangi langkah sebanyak 5 kali seminggu
6. Setelah hari ke-14. Istirahatkan mencit
7. Hari ke-15, di lakukan biopsy untuk pemeriksaan selanjutnya
8. Periksa kadar IL-6 dan MMP-1 menggunakan ELISA
9. Siapkan reagen dan larutan untuk ELISA
10. Lakukan pengenceran *standard solution* 120  $\mu\text{L}$  ke dalam *standard diluent* 120  $\mu\text{L}$ .
11. Lakukan pengenceran *wash buffer concentrate* 15 mL ke dalam *distilled water* 300 mL
12. Tambahkan 50  $\mu\text{L}$  *standard* ke masing-masing *plate*
13. Tambahkan 40  $\mu\text{L}$  sampel ke *plate*
14. Tutup *well* menggunakan *sealer*
15. Inkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C
16. Buka *sealer*, cuci *well* sebanyak 3 kali dengan *wash buffer*
17. Tambahkan 50  $\mu\text{L}$  *substrate solution A* dan 50  $\mu\text{L}$  *substrate solution B* ke masing-masing *well*

18. Inkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C
19. Tambahkan 50  $\mu$ L *stop solution* ke masing-masing *well*
20. Baca hasil absorbansi menggunakan ELISA *Reader* pada panjang gelombang 450 nm dalam 10 menit setelah penambahan *stop solution*.

#### 4.8 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan persetujuan *Ethical Clearance* FK Unissula Semarang dengan No. 76/II/2018/Komisi Bioetik. Penelitian dilakukan di Laboratorium FK UNISSULA Semarang. Pemeliharaan hewan coba dan perlakuan hewan coba dilakukan di Laboratorium Biologi FK UNISSULA Semarang. Pembuatan krim ekstrak kacang kedelai dilakukan di Laboratorium Kimia FK UNISSULA Semarang. Perlakuan hewan coba yang diberi paparan sinar UV-B dilakukan di Laboratorium Farmakologi FK UNISSULA Semarang.

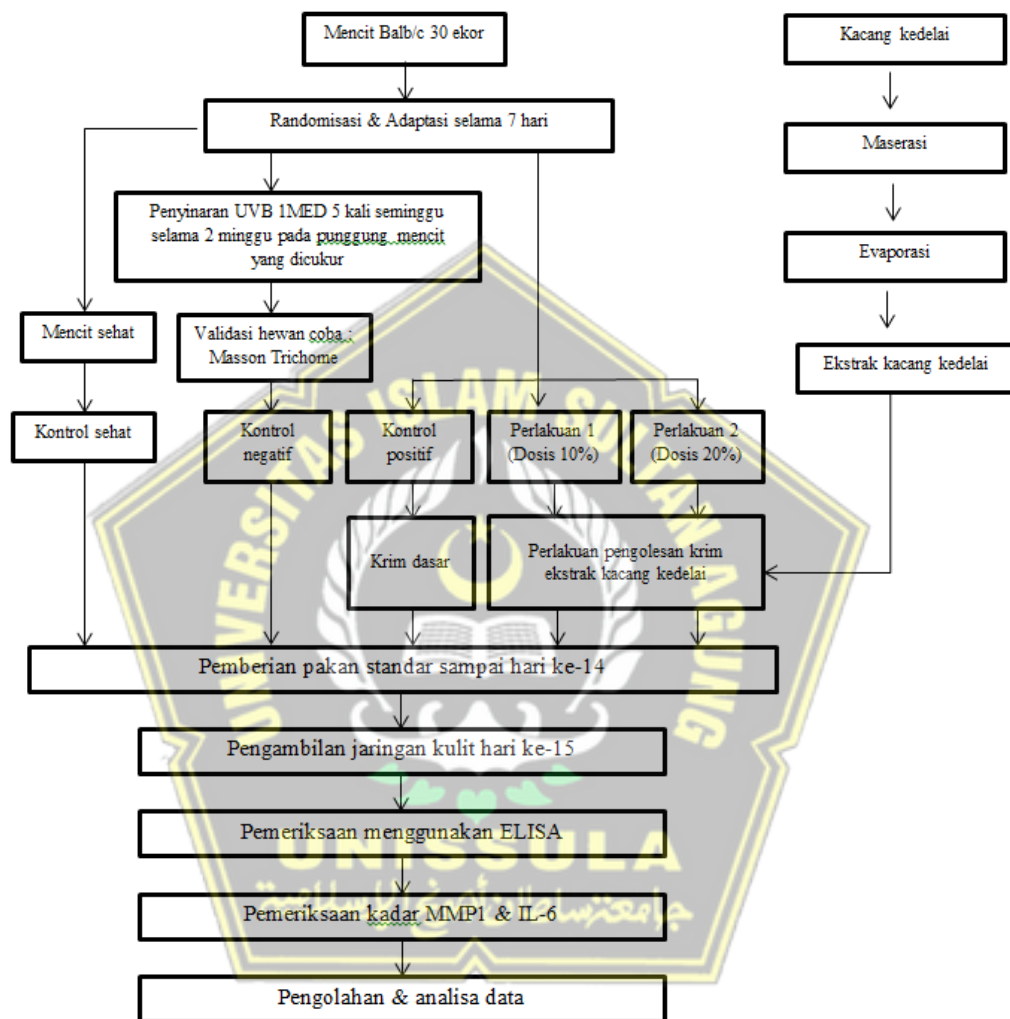
#### 4.9 Analisa Data

Data dikumpulkan dan disajikan dalam bentuk statistik dengan menseleksi data terlebih dahulu (editing, koding dan tabulasi) menggunakan *file navigator* program SPSS *for Windows*, Data mengenai kadar MMP-1 dan IL-6 pada mencit dari penelitian ini selanjutnya akan dilakukan uji deskriptif menggunakan skala data rasio. Analisis normalitas dan variasi data kemudian dilakukan menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan *Levene's Test*. Analisis data dilanjutkan dengan uji beda *One Way Anova* yang dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* untuk mengetahui

signifikansi perbedaan antar kelompok penelitian dengan signifikansi 0,05. Pengolahan analisis data pada penelitian ini menggunakan aplikasi dekstop SPSS 26.0 *for Windows*.



#### 4.10 Alur Penelitian



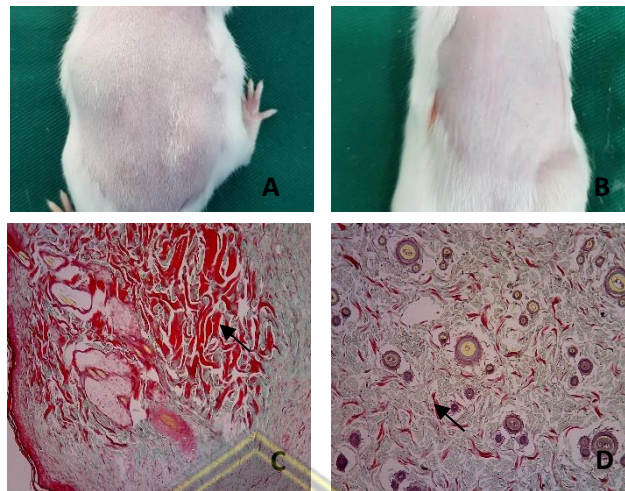
Bagan 4 Alur Penelitian

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini menguji efek krim ekstrak kacang kedelai terhadap kadar IL-6 dan MMP-1 pada 30 mencit betina Balb/c. Mencit terlebih dahulu dipaparkan dengan sinar UVB dengan dosis minimal 1 MED dengan jarak 20 cm selama 8 menit 5 x seminggu. Pengamatan secara makroskopis dilakukan untuk melihat adanya *wrinkle* akibat paparan UVB dan berdasarkan hasil pengamatan terlihat adanya *wrinkle* pada mencit yang terpapar UVB dibandingkan dengan yang tidak terpapar sebagaimana terlihat pada Gambar 8. Selain itu untuk memperkuat validasi, analisis secara anatomi dilakukan dengan menggunakan pengecatan Masson Trichome untuk melihat densitas elastin akibat paparan UVB. Berdasarkan penelitian terdahulu, elastin dapat terlihat sebagai gambaran merah pada pengecatan tersebut.<sup>50</sup> Berdasarkan hasil pengamatan secara anatomi didapatkan hasil bahwa terjadi penurunan ekspresi elastin pasca paparan sebagaimana yang ditunjukkan pada Gambar 8.



*Gambar 8 Terdapat kerutan pada mencit yang terpapar UVB (B) dibandingkan dengan yang tidak terpapar (A). Elastin yang ditunjukkan dengan warna merah (panah hitam) lebih banyak terdapat di kelompok tanpa paparan UVB (C), dibandingkan dengan kelompok dengan paparan UV (D)*

Kelompok mencit yang telah tervalidasi mengalami penurunan elastin pasca paparan UVB dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan antara lain, kelompok Kontrol Negatif (K2) diberikan sinar UVB dan kelompok Kontrol Positif (K3) diberikan sinar UVB dan diberi basis krim, kelompok perlakuan 1 dan 2 (K4 dan K5) diberi sinar UVB dan diberi krim ekstrak kacang kedelai dosis masing-masing 10% dan 20%, sedangkan mencit sehat tanpa paparan UVB digunakan sebagai kelompok kontrol sehat (K1). Pemberian krim ekstrak kedelai dilakukan setiap hari selama 14 hari dan pengambilan sampel jaringan dilakukan pada hari ke 15. Jaringan kemudian dilakukan homogenisasi menggunakan RIPA buffer dengan penambahan protease inhibitor. Setelah jaringan membentuk suspensi, kemudian dilakukan sentrifugasi dan supernatant dikumpulkan untuk analisis konsentrasi IL-6 dan MMP-1 menggunakan metode ELISA.<sup>51,52</sup>

### 1.1.1. Interleukin 6

Hasil analisis konsentrasi IL-6 ditunjukkan pada tabel 3. Berdasarkan hasil analisis ditemukan bahwa kelompok Sehat (K1) memiliki konsentrasi IL-6 terendah ( $135 \pm 37$  ng/mL) yang kemudian diikuti oleh K5 ( $242 \pm 54$  ng/mL) dan K4 ( $270 \pm 50$  ng/mL), sementara kelompok K2 memiliki konsentrasi IL-6 tertinggi ( $661 \pm 90$  ng/mL). Konsentrasi IL-6 yang menurun ditemukan pada kedua dosis krim ekstrak kacang kedelai dibandingkan dengan kelompok K2. Uji Shapiro wilk digunakan untuk mengevaluasi sebaran normalitas data dalam masing-masing kelompok konsentrasi IL-6 dalam masing-masing kelompok. Hasil uji Shapiro wilk menunjukkan bahwa sebaran data konsentrasi IL-6 dalam kelima kelompok tersebut normal ( $P > 0,05$ ). Untuk kelima kelompok, uji homogenitas varian data dengan Levene test menunjukkan bahwa nilai P lebih besar dari 0,05.

Tabel 3. Data Hasil Analisis Kadar IL-6

VARIABEL	Kelompok					P
	K1	K2	K3	K4	K5	
	(ng/mL) Rerata $\pm$ S D	(ng/mL) Rerata $\pm$ S D	(ng/mL) Rerata $\pm$ S D	(ng/mL) Rerata $\pm$ S D	(ng/mL) Rerata $\pm$ S D	
<b>IL-6</b>	135 $\pm$ 37	661 $\pm$ 90	615 $\pm$ 121	270 $\pm$ 50	242 $\pm$ 54	
Shapiro wilk						>0,05
Lavene test						0,227
One Way Anova						0,000

Berdasarkan data yang bersifat normal dan homogen, uji parametrik One Way Anova digunakan untuk mengetahui perbedaan rata-rata

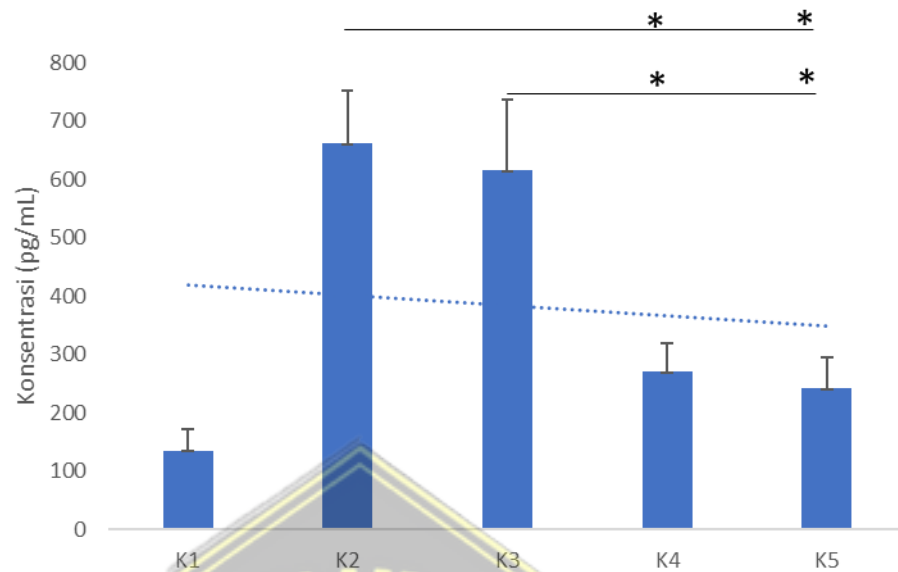


konsentrasi IL-6 di antara lima kelompok. Berdasarkan hasil uji One Way Anova data yang dihasilkan berbeda secara signifikan ( $P < 0,05$ ), yang menunjukkan bahwa terdapat beda nyata dalam data konsentrasi IL-6 pada setidaknya dua kelompok. Kemudian untuk menguji hubungan antar kelompok dilakukan uji Post Hoc LSD, dan didapatkan data seperti yang ditampilkan pada tabel 4

Tabel 4. Perbedaan rerata konsentrasi IL-6 antar dua kelompok dengan Uji Post hoc LSD

	K1	K2	K3	K4	K5
K1	-	0,000	0,000	0,006	0,024
K2	0,000	-	0,319	0,000	0,000
K3	0,000	0,319	-	0,000	0,000
K4	0,006	0,000	0,000	-	0,535
K5	0,024	0,000	0,000	0,535	-

Hasil uji post hoc LSD konsentrasi IL-6 diperoleh nilai  $p < 0,05$  untuk semua kelompok dibandingkan dengan kelompok K1. Hasil analisis juga menemukan bahwa ekstrak kacang kedelai kelompok K4 dan K5 berbeda secara signifikan dibandingkan dengan K2 ( $P < 0,05$ ). Selain itu K4 dan K5 juga berbeda secara signifikan dibandingkan dengan kelompok K3 ( $P < 0,05$ ). Data juga menunjukkan bahwa tidak ada beda antara kelompok K4 dan K5 ( $P > 0,05$ ). Pola penurunan yang ditunjukkan adalah dose dependent manner dimana dosis tertinggi menghasilkan penurunan konsentrasi IL-6 yang juga signifikan seperti yang ditunjukkan oleh Gambar 9.



Gambar 9. Grafik Konsentrasi IL-6 pasca pemberian krim ekstrak kedelai pada mencit yang terpapar UVB

### 5.1.2 Matriks Metalloproteinase-1

Hasil analisis konsentrasi MMP-1 ditunjukkan pada tabel 5. Kelompok K2 memiliki konsentrasi MMP-1 tertinggi ( $6488 \pm 895$ ), sedangkan kelompok dengan memiliki konsentrasi MMP-1 terendah adalah kelompok Sehat (K1) ( $3518 \pm 552$  pg/mL) yang kemudian diikuti oleh kelompok K5 ( $5398 \pm 436$  pg/mL). Kedua pemberian krim ekstrak kacang kedelai menunjukkan konsentrasi MMP-1 yang menurun. Karena konsentrasi MMP-1 dalam masing-masing kelompok adalah data rasio dan jumlah sampelnya tidak lebih dari 50, uji Shapiro wilk juga digunakan untuk menganalisis sebaran normalitas datanya. Hasil uji Shapiro wilk menunjukkan bahwa nilai p dalam kelima kelompok lebih besar dari 0,05, sehingga sebaran data konsentrasi MMP-1 dalam kelima kelompok

tersebut adalah normal. Hasil uji homogenitas varian data antar kelima kelompok dengan Levene test menghasilkan nilai p sebesar 0,497 ( $p > 0,05$ ) menunjukkan bahwa varian data konsentrasasi MMP-1 antar kelompok homogen. menunjukkan bahwa varian data konsentrasi MMP-1 antar kelompok bersifat homogen.

Tabel 5. Data Hasil Analisis Kadar MMP1

VARIABEL	Kelompok					P
	K1	K2	K3	K4	K5	
	Rerata±S D	Rerata±S D	Rerata±S D	Rerata±S D	Rerata±S D	
MMP-1	3518±552	6488±895	6484±746	6093±440	5398±436	
Shapiro wilk						>0,05
Lavene test						0,518
One Way Anova						0,000

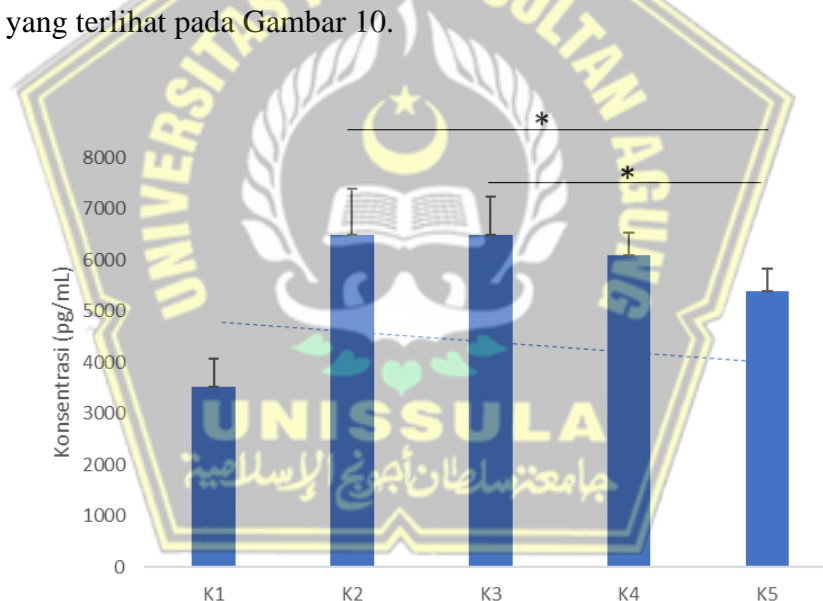
Berdasarkan data yang bersifat normal dan homogen, uji parametrik One Way Anova digunakan untuk mengetahui perbedaan rata-rata konsentrasi MMP-1 di antara lima kelompok. Berdasarkan hasil uji One Way Anova yang menghasilkan P sebesar 0,000, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan dalam konsentrasi MMP-1 pada setidaknya dua kelompok. Hasil uji Post hoc LSD berikut menunjukkan perbedaan signifikan dalam konsentrasi MMP-1 antar dua kelompok. Uji Post hoc LSD dilakukan untuk menunjukkan perbedaan dalam konsentrasi MMP-1 antar dua kelompok dan hasil ditampilkan pada Tabel 6

Tabel 6. Perbedaan rerata konsentrasi MMP-1 antar dua kelompok dengan Uji Post hoc LSD

	K1	K2	K3	K4	K5
K1	-	0,000	0,000	0,000	0,000
K2	0,000	-	0,990	0,295	0,007

K3	0,000	0,990	-	0,301	0,007
K4	0,000	0,295	0,301	-	0,072
K5	0,000	0,007	0,007	0,072	-

Hasil uji post hoc LSD konsentrasi MMP-1 diperoleh nilai  $p < 0,05$  untuk semua kelompok dibandingkan dengan kelompok Sehat. Hasil analisis juga menemukan bahwa hanya kelompok K5 yang berbeda secara signifikan dibandingkan dengan K2 ( $P < 0,05$ ). Pola penurunan yang ditunjukkan adalah dose dependent manner dimana dosis tertinggi menghasilkan penurunan konsentrasi MMP-1 yang juga signifikan seperti yang terlihat pada Gambar 10.



Gambar 9. Grafik Konsentrasi MMP-1 pasca pemberian ekstrak krim kedelai pada mencit yang terpapar UVB

## 5.1. Pembahasan Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah terjadi penurunan konsentrasi IL-6 dan MMP-1 pada pemberian krim ekstrak kacang kedelai dengan

variasi dosis 10% dan 20% pada mencit BALB/c yang diinduksi sinar UVB selama 8 menit setiap 5x dalam seminggu selama 2 minggu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa krim ekstrak kedelai dosis 10 dan 20% mampu menurunkan konsentrasi IL-6 dan pada dosis 20% krim ekstrak kacang kedelai mampu menurunkan konsentrasi MMP-1.

Proses *photoaging* melibatkan serangkaian perubahan kompleks pada kulit sebagai respons terhadap paparan sinar UV.<sup>53,54</sup> Paparan sinar UV pada area kulit dapat menyebabkan kerusakan pada DNA yang meningkatkan pembentukan senyawa *reactive oxygen species* (ROS) sehingga meningkatkan stres oksidatif.<sup>55</sup> Pembentukan ROS berujung pada aktivasi NF- $\kappa$ B sel imun lokal yang menyebabkan terjadinya inflamasi ditandai dengan adanya peningkatan sitokin pro inflamasi seperti IL-6 di area kulit.<sup>56,57</sup>

Inflamasi yang memicu produksi oleh IL-6 dapat menyebabkan menarik sel imun lain seperti neutrophil dan juga sel monosit untuk datang ke area yang terpapar UVB.<sup>57,58</sup> Sel-sel imun tersebut memproduksi berbagai molekul litik, termasuk MMP-1 pada jaringan kulit dan menjadi faktor pendorong utama dalam proses degradasi matriks ekstraseluler (MES) sehingga memicu perkembangan *photoaging*.<sup>57,59</sup>

Senyawa aktif yang terdapat dalam kedelai yaitu genistein dapat menghambat jalur respons inflamasi yang melalui pengaturan keseimbangan ROS.<sup>60-62</sup> Genistein telah terbukti mampu mengurangi ROS dapat berujung hambatan produksi sitokin inflamasi, termasuk IL-6.<sup>63,64</sup> Selain itu salah satu mekanisme utama genistein dalam mengurangi peradangan adalah melalui

penghambatan jalur NF- $\kappa$ B yang merupakan faktor transkripsi untuk mengatur ekspresi gen yang terlibat dalam respons inflamasi. Genistein dapat menghambat aktivasi NF- $\kappa$ B dan menghalangi perpindahan faktor ini ke nukleus, sehingga mengurangi produksi sitokin pro-inflamasi, termasuk IL-6.<sup>65-67</sup>

Menurut penelitian terdahulu, salah satu senyawa aktif lain yang terkandung dalam kedelai yaitu isoflavon memiliki peran penting dalam mengatur aktivitas Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK), yang merupakan serangkaian jalur sinyal yang terdiri dari ERK1/2 (Extracellular Signal-Regulated Kinase 1/2), JNK (c-Jun N-terminal Kinase), dan p38.<sup>68</sup> Masing-masing jalur MAPK ini terlibat dalam berbagai fungsi seluler, termasuk proliferasi, diferensiasi, dan respons terhadap stres atau peradangan.

Isoflavon telah terbukti menghambat aktivasi MAPK, termasuk ERK1/2, JNK, dan p38 dengan cara menghambat fosforilasi atau aktivasi ERK1/2, yang merupakan langkah kunci dalam jalur sinyal yang mengatur ekspresi gen MMP-1.<sup>68</sup> Dengan menghambat jalur MAPK, isoflavon secara tidak langsung dapat mengurangi ekspresi gen MMP-1 sehingga dapat mengurangi kerusakan matriks ekstraseluler yang berujung pada penghambatan photoaging.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa krim ekstrak kedelai dapat berperan dalam penurunan konsentrasi IL-6 dan MMP-1 melalui penghambatan jalur MAPK, radikal bebas, dan jalur inflamasi. Namun demikian, penelitian ini hanya melihat efek ekstrak kulit kedelai terhadap IL-6 dan MMP-1 tanpa memeriksa pathway yang meregulasi kedua protein tersebut seperti MAPK atau NF-B. Hal ini menyebabkan penelitian ini tidak dapat

mengungkapkan mekanisme yang melatarbelakangi penghambatan IL-6 dan MMP-1. Selain itu penelitian ini menggunakan whole extract yang menyebabkan tidak dapat diketahui molekul aktif seperti daidzein, dan genistein yang berperan dalam penghambatan IL-6 dan MMP-1. Hal-hal ini menjadi menjadi keterbatasan penelitian ini yang harus menjadi dasar bagi penelitian selanjutnya.



## **BAB VI**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **6.1. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh krim ekstrak kacang kedelai terhadap penurunan konsentrasi IL-6 dan MMP-1 pada mencit betina BALB/c yang dipapar UV-B, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Ada pengaruh krim ekstrak kacang kedelai (Glycine Max) terhadap penurunan konsentrasi IL-6 dan MMP-1 pada mencit betina BALB/c yang dipapar UV-B
2. Ada perbedaan konsentrasi IL-6 pada kelompok K4 dan K5 yang diberikan krim ekstrak kacang kedelai dengan dosis 10% dan 20% dibandingkan dengan kelompok kontrol
3. Ada perbedaan jumlah ekspresi Matriks Metalloproteinase-1 pada kelompok K5 yang diberikan krim ekstrak kacang kedelai dengan dosis 20% dibandingkan dengan kelompok kontrol.

#### **6.2. Saran**

Studi yang akan datang diharapkan untuk mengukur kadar isoflavon protein seperti daidzein, genistin, genistein, dan daidzin yang ditemukan dalam krim ekstrak kacang kedelai dan membandingkan pengaruh masing-masing protein terhadap ekspresi c-jun dan c-fos yang memediasi pembentukan MMP-1.



## DAFTAR PUSTAKA

1. Richter K. Oxidative Stress in Aging Human Skin. 2015;545–89.
2. Park HM, Moon E, Kim A, Kim MH, Lee S, Lee JB, et al. Extract of *Punica granatum* inhibits skin photoaging induced by UVB irradiation. 2010
3. Shin J, Kim J, Pak K, Kang J II, Kim T, Lee S, et al. A Combination of Soybean and Haematococcus Extract Alleviates Ultraviolet B-Induced Photoaging. *Int J Mol Sci*. 2017;16(682):1–13.
4. Cho Y-C, Han J-B, Park S. Photoprotective Effects of Soybean Extract against. *J Anim Reprod Biotechnol*. 2019;34(1):20–9.
5. Erlangga WidyaPutri Pemberian fraksi etil asetat ekstrak kedelai terhadap MMP1 dan rasio kolagen I/III. 2017
6. Ansary TM, Hossain MR, Kamiya K, Komine M, Ohtsuki M. Inflammatory molecules associated with ultraviolet radiation mediated skin aging. *Int J Mol Sci*. 2021;22(8)
7. Green AC, Hughes MCB, McBride P, Fourtanier A, Factors associated with premature skin aging (photoaging) before the age of 55. A population base study. *Dermatology*. 2011
8. Tsukahara K, Fujimura T, Yoshida Y, Kitahara T, Hotta M, Moriwaki S, et al. Comparison of age-related changes in wrinkling and sagging of the skin in Caucasian females and in Japanese females. *J Cosmet Sci*. 2004;55(4):351–71.
9. Lim H, Kim HP. Inhibition of Mammalian Collagenase , Matrix Flavonoids. *Planta Med*. 2007;73(12):1267–74.
10. Waqas MK, Akhtar N, Rasul A, Rashid SU, Mustafa R, Khan BA, et al. In vivo evaluation of a cosmetic emulsion containing soybean extract for anti-aging. *Trop J Pharm Res*. 2014;13(9):1401–6.
11. Lee JW, Peng L, Jegal H, Park NJ, Bong SK, Lee JW, et al. The soybean cultivar SCEL-1 shows potent anti-photoaging effects in a UV-induced three-dimensional human skin and hairless mouse model. *Appl Biol Chem* [Internet]. 2022;65(1). Available from:<https://doi.org/10.1186/s13765-022-00677-y>

12. Shin J, Kim J, Pak K, Kang J Il, Kim T, Lee S, et al. A Combination of Soybean and Haematococcus Extract Alleviates Ultraviolet B-Induced Photoaging. *Int J Mol Sci.* 2017;16(682):1–13.
13. Sun ii choi, tae dong jung, bong yeon cho, seung hyun choi, wan sup sim. Anti-photoaging effect of fermented agricultural by products on ultraviolet B-irradiated hairless mouse skin. 2019.
14. Pil Y, Ho J, Gyun H, Min J, Kyu S, Chul Y, et al. Cultivated ginseng suppresses ultraviolet B – induced collagenase activation via mitogen-activated protein kinases and nuclear factor  $\kappa$  B / activator protein-1 – dependent signaling in human dermal fibroblasts ☆. *Nutr Res [Internet].* 2012;32(6):428–38. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2012.04.005>
15. Sbardella D, Fasciglione GF, Gioia M, Ciaccio C, Tundo GR, Marini S, et al. Molecular Aspects of Medicine Human matrix metalloproteinases : An ubiquitarian class of enzymes involved in several pathological processes. *Mol Aspects Med [Internet].* 2012;33(2):119–208. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mam.2011.10.015>
16. Pittayapruek P, Meehansan J, Prapapan O, Komine M. Role of Matrix Metalloproteinases in Photoaging and Photocarcinogenesis. 2016
17. Wilson BD, Moon S, Armstrong F. Comprehensive Review of Ultraviolet Radiation and the Current Status on Sunscreens aBRUMMITTE. *J Clin Aesthet Dermatol.* 2012;5(9):18–23.
18. Freitas-rodr S, Folgueras AR, Carlos L, López-otún C. The role of matrix metalloproteinases in aging: Tissue remodeling and beyond. *BBA - Mol Cell Res [Internet].* 2017;1864(11):2015–25. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamcr.2017.05.007> MMP1
19. Matsumura Y, Ananthaswamy HN. Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin. 2004;195:298–308.
20. Scheller, J., Chalaris, A., Schmidt-Arras, D., & Rose-John, S. (2011). The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1813(5), 878-888
21. Tanaka, T., & Narazaki, M. (2014). Interleukin (IL-6) Immunotherapy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 6(10),

22. Quan, T., Qin, Z., Xia, W., & Voorhees, J. J. (2002). Repair of photoaged dermal matrix by topical application of a cosmetic "anti-aging" product. *Journal of Investigative Dermatology*, 117(6), 1479-1484.
23. Hunter, C. A., & Jones, S. A. (2015). IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nature Immunology*, 16(5), 448-457.
24. Ko K, Kim C, Ahn Y, Park S, Kim Y, Park JK, et al. Plasma isoflavone concentration is associated with decreased risk of type 2 diabetes in Korean women but not men : results from the Korean Genome and Epidemiology Study. *Diabetologia*. 2015;58:726–35.
25. Adisarwanto. *Budidaya kedelai tropika*. Jakarta.2014. Hlm. 76. Penerbit swadaya
26. Dixit A, antony J, sharma, N. K & tiwari, R. K. soybean constituents and their functional benefits. *Res. Signpost*, 367-383
27. Sajid M, Stone SR, Kaur P. Recent Advances in Heterologous Synthesis Paving Way for Future Green-Modular Bioindustries : A Review With Special Reference to Isoflavonoids. 2021;9(July):1–18.
28. Ko K, Kim C, Ahn Y, Park S, Kim Y, Park JK, et al. Plasma isoflavone concentration is associated with decreased risk of type 2 diabetes in Korean women but not men : results from the Korean Genome and Epidemiology Study. *Diabetologia*. 2015;58:726–35.
29. Lee JW, Peng L, Jegal H, Park NJ, Bong SK, Lee JW, et al. The soybean cultivar SCEL-1 shows potent anti-photoaging effects in a UV-induced three-dimensional human skin and hairless mouse model. *Appl Biol Chem [Internet]*. 2022;65(1). Available from: <https://doi.org/10.1186/s13765-022-00677-y>
30. Le XT, Luu V, Vi L, Toan TQ, Bach LG, Truc TT. Extraction Process of Polyphenols from Soybean ( *Glycine max L.* ) Sprouts : Optimization and. *Processes*. 2019;7(8):489.
31. McGrath JA. Properties of skin. In: Calonje E, Breen TJ, Lazar AJ, Billings SD, editors. *McKee's Pathology of the Skin with Clinical Correlation*. 5th ed. China: Elsevier; 2022. p. 1–3.
32. World Health Organization. *Environmental Health Criteria 160: Ultraviolet Radiation*. Geneva; 1994.
33. Akhter M, Inoue M, Kurahashi N, Iwasaki M, Sasazuki S. Dietary Soy and Isoflavone Intake and Risk of Colorectal Cancer in the

- Japan Public Health Center – Based Prospective Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(August):2128–35.
34. Yousef H, Alhajj M, Sharma S. *Anatomy, Skin (Integument).* StatPearls Publishing. 2022.
  35. Kerns ML, Chien AL, Kang S. Skin aging. Dalam: Kang S, Amagai M, Bruckner AL, Enk AH, Margolis DJ, McMichael AJ, et al, editor. *Fitzpatrick's dermatology.* Edisi ke-9. New York: McGraw Hill; 2019. h.1779-91.
  36. Zhang S, Duan E. Fighting against skin aging: the way from bench to bedside. *Cell Transplant.* 2018;27:729-38.
  37. Chen S, He Z, Xu J. Application of adipose-derived stem cells in photoaging: basic science and literature reviews. *Stem Cell Res Ther.* 2020;11:491. doi: 10.1186/s13287-020-01994-z
  38. Kim M, Park HJ. *Molecular mechanisms of skin aging and rejuvenation.* IntechOpen; 2016.
  39. Ramos-e-Silva M, da Silva CSC. Elderly skin and its rejuvenation: products and procedures for the aging skin. *J Cosmet Dermatol.* 2007;6:40-50. doi: 10.1111/j.1473-2165.2007.00289.x
  40. Parkinson LG, Toro A, Zhao H, Brown K, Tebbutt SJ, Granville DJ. Granzyme B mediates both direct and indirect cleavage of extracellular matrix in skin after chronic low-dose ultraviolet light irradiation. *Aging Cell.* 2015;14:67–7
  41. Wang P, Hung Y, Lin T, Fang J, Yang P. Comparison of the Biological Impact of UVA and UVB upon the Skin with Functional Proteomics and Immunohistochemistry. 2019;
  42. Chiang H, Chen H, Chiu H, Chen C, Wang S, Wen K. Neonauclea reticulata (Havil.) Merr Stimulates Skin Regeneration after UVB Exposure via ROS Scavenging and Modulation of the MAPK / MMPs / Collagen Pathway. 2013;2013.
  43. Sbardella D, Fasciglione GF, Gioia M, Ciaccio C, Tundo GR, Marini S, et al. Molecular Aspects of Human matrix metalloproteinases: An ubiquitous class of enzymes involved in several pathological processes. *Mol Aspects Med* [Internet].
  44. Cabral-pacheco GA, Garza-veloz I, Rosa CC, Martinez-avila N, Martinez-fierro ML. *The Roles of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Human Diseases.* 2020

45. Yangfang fan, joe hoon jeong, ga young you ji ung park. An Experimental Model Design For Photoaging. The journal of craniofacial surgery. 2015
46. Fujiwara Y, Shiraishi D, Yoshitomi M, Ikeda T, Mizuta H, Takeya M, et al. Soyasapogenols contained in soybeans suppress tumour progression by regulating macrophage differentiation into the protumoural phenotype. J Funct Foods. 2015;
47. Steiner C, Arnould S, Scalbert A, Manach C. Isoflavones and the prevention of breast and prostate cancer: New perspectives opened by nutrigenomics. British Journal of Nutrition. 2008.
48. Krzyszczyk P, Schloss R, Palmer A, Berthiaume F. The role of macrophages in acute and chronic wound healing and interventions to promote pro-wound healing phenotypes. Frontiers in Physiology. 2018.
49. Cho YC, Han JB, Park SI. Photoprotective Effects of Soybean Extract against UV-Induced Damage in Human Fibroblast and Hairless Mouse Model. J Anim Reprod Biotechnol. 2019;
50. Zou, Y. & Zhang, Y. An experimental and theoretical study on the anisotropy of elastin network. Ann. Biomed. Eng. (2009) doi:10.1007/s10439-009-9724-z.
51. Preece, E. P., Moore, B. C., Swanson, M. E. & Hardy, F. J. Identifying best methods for routine ELISA detection of microcystin in seafood. Environ. Monit. Assess. (2015) doi:10.1007/s10661-014-4255-y.
52. Shan, H.-M., Schwab, M. E. & Maurer, M. A. Development of a Sensitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with Three Amplification Antibodies to Detect Low-Abundant Mouse Antibodies in the Mouse Central Nervous System. J. Immunol. (2023) doi:10.4049/jimmunol.2200893.
53. Sharma, M. R., Werth, B. & Werth, V. P. Animal models of acute photodamage: Comparisons of anatomic, cellular and molecular responses in C57BL/6J, SKH1 and Balb/c mice. Photochem. Photobiol. (2011) doi:10.1111/j.1751-1097.2011.00911.x.
54. Kim, D. J., Iwasaki, A., Chien, A. L. & Kang, S. UVB-mediated DNA damage induces matrix metalloproteinases to promote photoaging in an AhR- and SP1-dependent manner. JCI Insight (2022) doi:10.1172/jci.insight.156344.

55. Chen, X., Yang, C. & Jiang, G. Research progress on skin photoaging and oxidative stress. *Postepy Dermatologii i Alergologii* at <https://doi.org/10.5114/ada.2021.112275> (2021).
56. Morgan, M. J. & Liu, Z. G. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- $\kappa$ B signaling. *Cell Research* at <https://doi.org/10.1038/cr.2010.178> (2011).
57. Ansary, T. M., Hossain, M. R., Kamiya, K., Komine, M. & Ohtsuki, M. Inflammatory molecules associated with ultraviolet radiation-mediated skin aging. *Int. J. Mol. Sci.* 22, (2021).
58. C., S., T.H., T., N., A. & D., L. Ultraviolet-b induced plasmacytoid dendritic cell migration and type 1 interferon signaling in the skin. *Arthritis Rheum.* (2013).
59. Clydesdale, G. J., Dandie, G. W. & Muller, H. K. Ultraviolet light induced injury: Immunological and inflammatory effects. *Immunology and Cell Biology* at <https://doi.org/10.1046/j.1440-1711.2001.01047.x> (2001).
60. Pang, D. et al. Soy isoflavones improve the oxidative stress induced hypothalamic inflammation and apoptosis in high fat diet-induced obese male mice through PGC1-alpha pathway. *Aging (Albany, NY)*. (2020) doi:10.18632/aging.103197.
61. Vera, M. et al. Antioxidant and anti-inflammatory strategies based on the potentiation of glutathione peroxidase activity prevent endothelial dysfunction in chronic kidney disease. *Cell. Physiol. Biochem.* (2018) doi:10.1159/000495540.
62. Kim, I. S. Current perspectives on the beneficial effects of soybean isoflavones and their metabolites for humans. *Antioxidants* at <https://doi.org/10.3390/antiox10071064> (2021).
63. Goh, Y. X., Jalil, J., Lam, K. W., Husain, K. & Premakumar, C. M. Genistein: A Review on its Anti-Inflammatory Properties. *Frontiers in Pharmacology* at <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.820969> (2022).
64. Miao, Z. Y., Xia, X., Che, L. & Song, Y. T. Genistein attenuates brain damage induced by transient cerebral ischemia through up-regulation of Nrf2 expression in ovariectomized rats. *Neurol. Res.* (2018) doi:10.1080/01616412.2018.1462879.
65. Sharma, S. et al. Genistein: A novel inhibitor of IL-6/IL-6R interface of the Interleukin-6-mediated STAT3 dependent pathway

- of carcinogenesis. *J. Mol. Struct.* (2022) doi:10.1016/j.molstruc.2022.132668.
66. Cheng, W. X. et al. Genistein inhibits angiogenesis developed during rheumatoid arthritis through the IL-6/JAK2/STAT3/VEGF signalling pathway. *J. Orthop. Transl.* (2020) doi:10.1016/j.jot.2019.07.007.
67. Liu, X. et al. C/EBP $\beta$  promotes angiogenesis through secretion of IL-6, which is inhibited by genistein, in EGFRvIII-positive glioblastoma. *Int. J. Cancer* (2015) doi:10.1002/ijc.29319.
68. Lim, T. G. et al. The daidzein metabolite, 6,7,4'-Trihydroxyisoflavone, is a novel inhibitor of PKC $\alpha$  in suppressing solar UV-induced matrix metalloproteinase 1. *Int. J. Mol. Sci.* (2014) doi:10.3390/ijms151121419.

