

**PENGARUH PEMBERIAN KRIM EKSTRAK KACANG  
KEDELAI (*Glycine max*) TERHADAP KADAR MATRIX  
METALLOPROTEINASE-3 (MMP-3) DAN INTERLEUKIN-1  
(IL-1)  
(Studi Eksperimental *in Vivo* Pada Mencit Balb/c yang diinduksi sinar UVB)**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



**Magister Ilmu Biomedik**

**Raihana Saktiriyani**

**MBK2118010267**

**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOMEDIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS  
ISLAM SULTAN AGUNG  
SEMARANG 2024**

## LEMBAR PENGESAHAN

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK PADA KACANG KEDELAI  
(*Glycine max*) TERHADAP KADAR MATRIX  
METALLOPROTEINASE 3 (MMP-3) DAN INTERLEUKIN-1 (IL-1)  
(Studi Eksperimental *in Vivo* Pada Mencit Balb/c yang diinduksi sinar UVB)**

disusun oleh :

**Raihana Saktiriyani**

**MBK2118010267**

Yang dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 28 Februari 2024 dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Telah disetujui oleh :

Pembimbing I,

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

Pembimbing II,

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

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik  
Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung

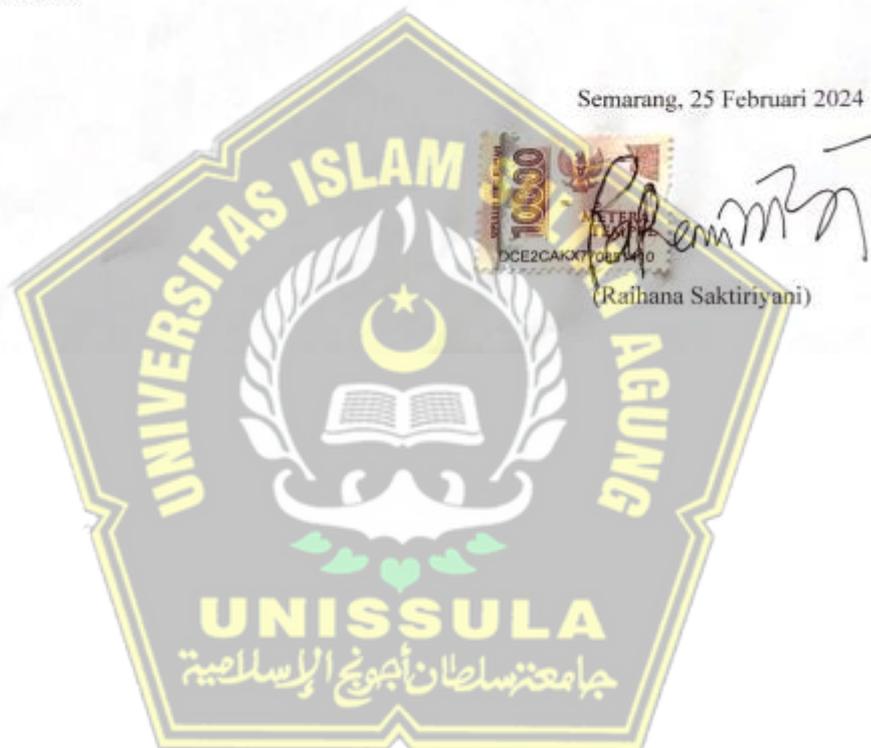


Prof.Dr.dr.H. Agung Putra, M.Si.Med  
NIK. 210199050

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dandidalamnya 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, 25 Februari 2024



(Raihana Saktiriyani)

## 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 (*Glycine max*) TERHADAP KADAR MATRIX METALLOPROTEINASE-3 (MMP-3) DAN INTERLEUKIN-1 (IL-1)** (Studi Eksperimental *in-vivo* Pada Mencit Balb/c yang diinduksi sinar UVB) 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 semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung memberikan kontribusi dalam menyelesaikan Tesis ini. Penulis ingin menyampaikan terima kasih sedalam-dalamnya kepada :

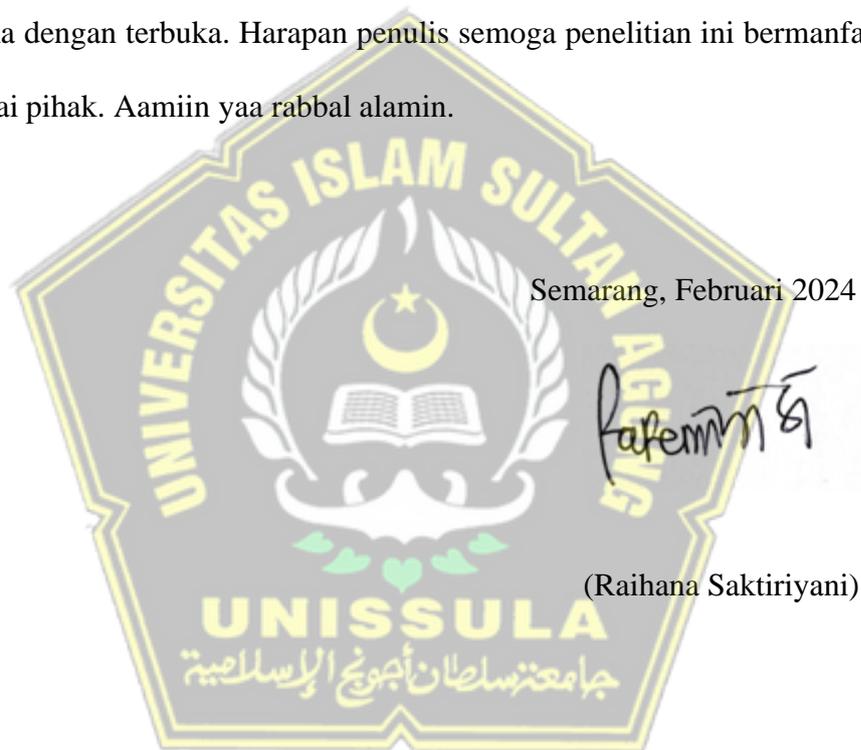
1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH., M. Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung beserta para wakil rektor yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh dan menyelesaikan pendidikan Magister Biomedik.
2. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H.,Sp.KF selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas 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. dr. Prasetyowati Subchan, Spkk (K) selaku pembimbing I dalam penelitian yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan thesis.
5. Prof. Dr. Ir. Titiek Sumarawati. Mkes 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. Kedua orang tuaku, Ibu Munifa Hasan Nasar dan Bapak Rendy Lamadjido. Terima kasih atas doa, dukungannya dan kasih sayang yang selama ini telah dicurahkan untukku. Semoga anakmu ini bisa menjadi anak yang kelak akan membanggakan dan membahagiakan kalian.
8. Untuk Orang – orang tersayangku, Raisa Nadine, Razita Lathifah, Terima kasih telah memberikan semangat kepadaku dan memotivasi untuk tetap bertahan dan tetap bersemangat untuk menggapai cita-cita. Suamiku, Denniel Fahrevi yang selalu mensupport dan mendoakan.
9. Untuk Adik – adikku tersayang Riyad, Rinda dan Riana. Terima kasih atas dukungan kalian semua. Serta seluruh keluarga besar Kemayoran, Lamadjido dan Al - Amrie untuk semua doa-doanya.
10. Sahabat – sahabat terbaikku, Qsha, Nofrina, Astri Irma, Farah, Zainah, Muhzain Nita, Neneng, Pia, Feby, Maryanti, Haryadi, Mike, Adefirmansyah, Atiqa, Arin,

Nunu, Muna, Rira, Group Princess dan Nakama.

11. 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.



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>1</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	<b>i</b>
<b>PERNYATAAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat penelitian .....	4
1.5 Originalitas Penelitian.....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>8</b>
2.1 Matriks Metalloproteinase-3 (MMP-3) .....	8
2.2 Interleukin-1 .....	10
2.3. Metode Analisis MMP3 dan IL-1 Menggunakan ELISA .....	12
2.4. Kacang kedelai .....	13
2.4. Dampak UVB Terhadap Kulit .....	16
2.5. Efek Sinar UV terhadap MMP-3 dan IL-1 .....	18
2.6 Efek Ekstrak Kacang Kedelai Terhadap MMP-3 dan IL-1 .....	19
<b>BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS</b> .....	<b>22</b>
3.1 Kerangka Teori.....	22
3.2 Kerangka konsep.....	24

3.3	Hipotesis.....	24
<b>BAB IV METODE PENELITIAN.....</b>		<b>25</b>
1.1.	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian .....	25
1.2.	Variabel penelitian dan definisi operasional.....	26
1.3.	Subyek penelitian dan sample penelitian .....	28
1.4.	Besar Sampel .....	30
1.5.	Alat dan Bahan .....	31
1.6.	Cara Penelitian.....	32
1.7.	Langkah Penelitian dilakukan sebagai berikut : .....	37
1.8.	Tempat dan Waktu Penelitian.....	39
1.9.	Analisa Data.....	39
4.10	Alur Penelitian .....	40
	.....	40
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>54</b>



## DAFTAR SINGKATAN

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

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. 1. Originalitas Penelitian.....	5
Tabel 5. 1. Data Hasil Analisis Kadar IL-1.....	43
Tabel 5. 2. Perbedaan rerata kadar IL-1 antar dua kelompok dengan Uji Post hoc LSD..	44
Tabel 5. 3. Data Hasil Analisis Kadar MMP-3 .....	46
Tabel 5. 4. Perbedaan rerata kadar MMP-3 antar dua kelompok dengan Uji Post hoc LSD .....	46



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 3. 1. Kerangka Teori.....	23
Gambar 4. 1. Validasi hewan coba : wrinkle dan erymatous palupe pada mencit yang di papir sinar UV dan yang tidak di papir sinar UV pada hari ke-14. <sup>45</sup> .....	35
Gambar 4. 2. Pengecatan Masson Trichome pada mencit yang di papir sinar UV dan yang tidak di papir sinar UV .....	37



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Kulit manusia jika terpapar secara terus-menerus radiasi Ultraviolet B (UVB) yang dapat menyebabkan kerusakan pada struktur kulit dan inflamasi. Radiasi UVB diketahui sebagai salah satu faktor utama dalam pemicu perubahan biologis yang signifikan pada kulit.<sup>1</sup> Dampak dari paparan UVB tidak hanya terbatas pada proses penuaan kulit, namun juga dapat memicu respon inflamasi yang kompleks melalui peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) yang diikuti pelepasan berbagai mediator inflamasi seperti Interleukin 1 (IL-1) dan *matrixmetalloproteinase-3* (MMP3) yang merupakan enzim degradatif.<sup>2</sup> Peningkatan IL-1 dan MMP-3 akibat sinar UVB berdampak pada penurunan elastisitas kulit yang dapat berdampak terhadap estetika kulit.<sup>3</sup> Selama ini, pengobatan menggunakan krim yang mengandung vitamin E diketahui dapat menangkal radikal bebas dan meredakan inflamasi melalui penekanan IL-1 dan MMP-3. Penelitian terdahulu menyatakan bahwa kacang kedelai (*Glycine max*) memiliki kandungan vitamin E dan beberapa bahan aktif seperti genestein, daidzein, dan glycitein yang memiliki kemampuan antioksidan dan antiinflamasi sehingga mampu menekan inflamasi kulit akibat paparan UVB.<sup>4</sup> Namun demikian, peran ekstrak kacang kedelai (EKK) dalam menekan inflamasi melalui penghambatan produksi MMP-3 dan IL-1 masih belum diketahui. Oleh karena itu, penelitian terhadap EKK pada penekanan inflamasi yang dikaitkan dengan MMP-3 dan IL-1 perlu dilakukan.

Setiap tahun, terjadi peningkatan insidensi gangguan kulit akibat paparan sinar UV seiring dengan melemahnya lapisan ozon. Pada tahun 2020, insidensi hiperpigmentasi menunjukkan peningkatan signifikan dengan jumlah kasus baru sekitar ~100.350.<sup>5</sup> Studi yang dilakukan di Australia mengungkapkan bahwa gangguan kulit yang terkait dengan sinar UV terjadi pada 72% laki-laki dan 47% perempuan yang berusia di bawah 30 tahun. Persentase ini cenderung meningkat sejalan dengan bertambahnya usia dan berhubungan dengan kondisi seperti solar keratosis dan kanker kulit.<sup>6</sup> Penelitian epidemiologi pada populasi Amerika Utara dengan jenis kulit Fitzpatrick I-III menunjukkan bahwa insidensi kerusakan kulit lebih tinggi, yakni sekitar 80-90%.<sup>7</sup> Pengobatan standar untuk kondisi kulit yang terpapar UVB sering melibatkan krim atau salep steroid, kalsineurin inhibitor, atau immunosupresan sesuai dengan diagnosis medis yang tepat dan kebutuhan pasien.<sup>8</sup> Namun demikian, pengobatan tersebut dalam jangka panjang memiliki dampak negatif karena dapat menyebabkan penipisan kulit, kemerahan, hiperpigmentasi, menurunkan elastisitas kulit dan penurunan sistem kekebalan tubuh yang berujung infeksi.

Paparan radiasi ultraviolet B merupakan faktor utama dalam menyebabkan produksi MMP-3 dan IL-1.<sup>9</sup> Ketika kulit terpapar sinar UVB, terjadi aktivasi jalur sinyal *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) dan jalur *phosphoinositide 3-kinase* (PI3K). Aktivasi ini memicu sekresi faktor transkripsi seperti AP-1 dan NF- $\kappa$ B. Aktivasi AP-1 dan NF- $\kappa$ B merupakan mekanisme penting dalam regulasi ekspresi gen untuk MMP-3 dan IL-1.<sup>10</sup> AP-1 mengatur ekspresi gen MMP-3, sejenis enzim yang bertanggung jawab dalam degradasi komponen matriks ekstraseluler.<sup>11</sup>

Peningkatan aktivitas MMP-3 berkontribusi pada penurunan kepadatan kolagen dan elastin, yang mengarah pada penuaan kulit. Sementara itu, NF- $\kappa$ B berperan dalam pengaturan ekspresi IL-1, sitokin pro-inflamasi yang memicu respons imun dan inflamasi.<sup>12</sup> Selain itu, paparan UVB juga memicu kerusakan DNA langsung pada sel kulit, yang dapat menyebabkan pelepasan radikal bebas dan perubahan struktural yang mempengaruhi sinyal seluler. Hal ini memicu respons imun yang melibatkan interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ) dan meningkatkan respons inflamasi melalui jalur IL-1.<sup>13</sup>

Ekstrak kacang kedelai (EKK) telah menunjukkan potensi sebagai agen yang dapat mengurangi dampak paparan sinar UVB pada kulit. Studi menunjukkan bahwa EKK mengandung senyawa-senyawa aktif seperti isoflavon, genistein, dan daidzein yang memiliki sifat anti-inflamasi dan antioksidan yang mampu mengurangi aktivitas MMP-3 dan IL-1 pada kulit yang terpapar UVB.<sup>14</sup> Kandungan isoflavon dalam EKK dapat menghambat jalur sinyal yang memicu produksi MMP3, yang berperan dalam degradasi matriks kulit, serta menekan respons inflamasi dengan mengurangi produksi IL-1.<sup>15</sup> Selain itu, penelitian sebelumnya menyatakan bahwa sediaan krim memiliki viskositas yang tinggi dan struktur molekuler yang mendukung penyerapan yang lebih efisien oleh kulit, menyediakan platform ideal untuk formulasi dengan bahan aktif seperti ekstrak kacang kedelai yang mengandung isoflavonoid, seperti genistein. Namun demikian, pengaruh pemberian krim EKK terhadap kadar MMP-3 dan IL-1 pada kulit yang terpapar UVB belum dilakukan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah apakah pemberian krim EKK dapat menurunkan kadar MMP-3 dan menekan kadar IL-1 pada mencit BALB/c yang terkena paparan sinar UVB?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengevaluasi efek pemberian krim EKK pada kadar MMP-3 dan IL-1 pada mencit BALB/c yang terpapar sinar UVB.

### 1.3.2 Tujuan khusus

- a. Menguji perbedaan tingkat MMP-3 pada mencit BALB/c yang terpapar sinar UVB dan diberikan krim EKK 10% dan 20% dibandingkan dengan kelompok kontrol.
- b. Meneliti perbedaan tingkat IL-1 pada mencit BALB/c yang terpapar sinar UVB dan diberi krim EKK 10% dan 20% dibandingkan dengan kelompok kontrol.

## 1.4 Manfaat penelitian

### 1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan memberikan bukti saintifik tentang dampak pemberian krim EKK terhadap tingkat MMP-3 dan IL-1 pada mencit BALB/c yang terpapar sinar UVB.

### 1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar bagi dunia industri dalam mengembangkan EKK sebagai obat untuk kulit yang terpapar UVB yang dapat digunakan oleh tenaga medis.

### 1.5 Originalitas Penelitian

Berdasarkan kajian yang telah dilakukan, berikut merupakan penelitian terkait penggunaan pengaruh penggunaan ekstrak kacang kedelai secara *in vitro* atau pun *in-vivo*:

Tabel 1. 1. Originalitas Penelitian

No	Peneliti	Judul	Metode	Hasil Penelitian
1	Lee J et al. <sup>16</sup>	<i>The soybean cultivar SCEL-1 shows potent anti-photoaging effects in a UV-induced three-dimensional human skin and hairless mouse model</i>	Eksperimen <i>al in-vivo</i>	kacang kedelai kultivar SCEL-1 hitam mencegah penuaan kulit dengan menghambat MMP-1 dan meningkatkan kolagen.
2	Hastuti, 2019	Efektivitas Krim Ekstrak Kulit Batang Nangka ( <i>Arthocarpus Heterophilus</i> ) terhadap Sunburn Cell, Serat Elastin, dan MMP-1 ( Studi Eksperimental mencit wistar jantan ( <i>Rattus Norvegicus</i> ) yang dipapar sinar UVB	Eksperimen <i>al in-vivo</i>	Formulasi krim ekstrak batang nangka kadar 2% dan 4% mampu menurunkan jumlah <i>sunburn cell</i> , meningkatkan serat elastin dan menurunkan MMP-1 secara signifikan pada mencit wistar jantan yang dipapar sinar UVB.
3	Putri, 2019	Pengaruh Pemberian Fraksi Etil Asetat	Eksperimen <i>al in-vivo</i>	Isoflavon oral yang terkandung

		Ekstrak Kedelai terhadap Ekspresi Mmp-1 , Ratio Kolagen Tipe I dan III serta Jumlah Melanin pada Mencit yang Dipapar UVB (Studi Eksperimental Pada Mencit Betina)		dalam ekstrak kacang kedelai mampi menurunkan eskpresi MMP-I, ratio kolagen tipe I dan tipe III serta jumlah melanin secara signifikan pada mencit BALB/c yang dipapar sinar UVB.
4	Tanaka et al., <sup>17</sup>	<i>Anti-inflammatory effects of green soybean extract irradiated with visible light</i>	<i>Ekspreriment al in-vivo</i>	Penelitian efek paparan cahaya terhadap ekstrak kedelai menunjukkan penekanan IL-2 dan penghambatan JNK.
5	Devi, 2017	Pengaruh Krim Ekstrak Kacang Kedelai (Glycine Max) Terhadap Ekspresi Matriks Metalloproteinase-1 dan Rasio Kolagen Dermis Tipe-1, Tipe-III (Penelitian Eksperimental pada Mencit BALB/c yang dipapar sinar UVB)	<i>Ekspreriment al in-vivo</i>	Formulasi Krim ekstrak kacang kedelai dosis 16% mampu menurunkan ekspresi MMP-1 dan rasio kolagen tipe I,III secara signifikan pada mencit wistar jantan yang dipapar sinar UVB.

Penelitian yang dilakukan oleh Lee mengkaji pengaruh kacang kedelai galur SCEL-1 terhadap MMP-1 dan kolagen. Penelitian ini berbeda dengan penelitian yang akan dilakukan yang mengkaji parameter MMP-3 dan IL-1.

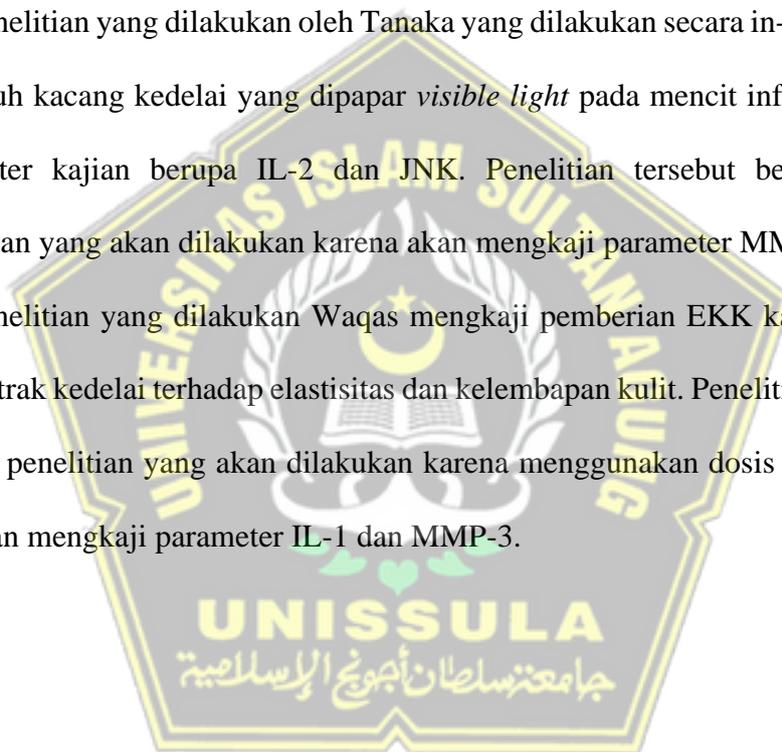
Penelitian yang dilakukan Kusumawati mengkaji profil fikokimia yang diuji dengan aktivitas tyrosinase dari kacang kedelai namun tidak melakukan evaluasi

secara in-vivo. Penelitian tersebut berbeda dengan penelitian yang akan dilakukan karena menggunakan kajian secara in-vivo dengan parameter MMP-3 dan IL-1.

Penelitian yang dilakukan Juliana membandingkan efek antioksidan antara EKK dan Daidzein dengan parameter IC50 dan aktivitas elastase yang dilakukan secara in vitro. Penelitian tersebut berbeda dengan penelitian yang akan dilakukan karena akan dilakukan secara in-vivo dengan parameter MMP-3 dan IL-1.

Penelitian yang dilakukan oleh Tanaka yang dilakukan secara in-vivo mengkaji pengaruh kacang kedelai yang dipapar *visible light* pada mencit inflamasi dengan parameter kajian berupa IL-2 dan JNK. Penelitian tersebut berbeda dengan penelitian yang akan dilakukan karena akan mengkaji parameter MMP-3 dan IL-1.

Penelitian yang dilakukan Waqas mengkaji pemberian EKK kadar formulasi 4% ekstrak kedelai terhadap elastisitas dan kelembapan kulit. Penelitian ini berbeda dengan penelitian yang akan dilakukan karena menggunakan dosis 10% dan 20% krim dan mengkaji parameter IL-1 dan MMP-3.



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Matriks Metalloproteinase-3 (MMP-3)**

Matrix Metalloproteinase merupakan keluarga enzim yang berperan penting dalam pengaturan matriks ekstraseluler, sebuah jaringan yang mendukung struktur dan fungsi sel. Enzim ini berperan dalam penguraian dan modifikasi komponen matriks ekstraseluler, seperti kolagen, elastin, dan protein lainnya. Fungsi utama MMP adalah memengaruhi proses biologis, termasuk perbaikan jaringan, pembentukan organ, respons imun, dan proses inflamasi.<sup>18</sup>

Terdapat beberapa jenis MMP, dengan masing-masing memiliki peran dan distribusi yang berbeda di dalam tubuh. Beberapa di antaranya adalah MMP-1, MMP-2, MMP-9, dan lainnya.<sup>19</sup> MMP-3, atau dikenal juga sebagai stromelysin-1, merupakan salah satu enzim yang terlibat dalam penguraian matriks ekstraseluler. MMP-3 memiliki kemampuan untuk menghancurkan komponen penting dari matriks ekstraseluler, seperti kolagen tipe II, proteoglikan, fibronectin, dan laminin.<sup>20</sup>

Enzim MMP-3 juga memiliki peran dalam proses peradangan, perbaikan jaringan, serta dalam proses patologis tertentu, seperti osteoarthritis, aterosklerosis, dan penyakit lain yang melibatkan modifikasi matriks ekstraseluler. Selain itu, MMP-3 juga dapat memengaruhi regulasi aktivitas enzim lain, sehingga memiliki dampak signifikan dalam berbagai proses fisiologis dan patologis dalam tubuh manusia.<sup>21</sup>

*Pathway* aktivasi MMP-3 melibatkan serangkaian proses kompleks yang terjadi dalam respons terhadap perubahan lingkungan, cedera, atau rangsangan tertentu. Beberapa faktor dapat memicu aktivasi MMP-3, termasuk paparan radiasi UVB (sinar ultraviolet B). Aktivasi MMP-3 dapat dipengaruhi oleh berbagai jalur sinyal, salah satunya adalah jalur MAPK (*mitogen-activated protein kinase*).<sup>22</sup>

Paparan sinar UVB pada kulit dapat memicu perubahan dalam sel-sel kulit dan mengaktifkan jalur sinyal tertentu. Ini dapat mengakibatkan peningkatan produksi faktor-faktor seperti interleukin (IL-1) dan *epidermal growth factor* (EGF), yang pada gilirannya merangsang aktivasi MMP-3.<sup>23</sup> Pada kondisi normal, MMP-3 memiliki peran dalam regulasi homeostasis jaringan dan perbaikan luka. Namun, pada paparan sinar UVB yang berlebihan, aktivasi berlebihan dari MMP-3 dapat menyebabkan degradasi kolagen, elastin, dan komponen struktural kulit lainnya.<sup>24</sup>

Dampak paparan sinar UVB terhadap kulit terkait aktivasi MMP-3 dapat menyebabkan penurunan kekencangan kulit dan peningkatan kerutan. Kolagen, yang memberikan kekuatan dan elastisitas pada kulit, menjadi target utama MMP-3. Aktivasi berlebihan dari enzim ini dapat mengakibatkan penurunan jumlah dan kualitas kolagen, yang pada akhirnya dapat menyebabkan penuaan dini pada kulit.<sup>25</sup> Selain itu, penghancuran komponen struktural kulit oleh MMP-3 dapat mempengaruhi kemampuan kulit untuk mempertahankan kelembapan dan perlindungan terhadap lingkungan eksternal.<sup>26</sup>

Perlindungan kulit dari paparan sinar UVB dan pengendalian aktivasi berlebihan MMP-3 menjadi kunci dalam menjaga kesehatan kulit. Penggunaan tabir surya, perawatan kulit yang tepat, dan penelitian terus-menerus untuk mengidentifikasi cara-cara mengontrol jalur aktivasi MMP-3 dapat membantu dalam melindungi kulit dari efek buruk paparan sinar UVB dan penuaan dini.<sup>27</sup>

## 2.2 Interleukin-1

Interleukin-1 adalah sitokin proinflamasi yang berperan dalam mengatur respons imun dan peradangan dalam tubuh. Terdapat dua bentuk utama: IL-1 $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ . IL-1 berperan dalam memicu respon imun terhadap infeksi, cedera, atau iritasi. IL-1 terlibat dalam berbagai proses biologis, termasuk diferensiasi sel, proliferasi, dan aktivasi sel imun.<sup>28</sup> Ketika terjadi cedera atau infeksi pada kulit akibat paparan sinar UVB, IL-1 dilepaskan oleh sel-sel kulit dan bertanggung jawab dalam memicu respon inflamasi. Namun, produksi berlebihan IL-1 dapat terkait dengan kondisi peradangan kronis, seperti pada arthritis reumatoid atau penyakit autoimun, dan juga dapat berperan dalam berbagai kondisi kulit seperti sunburn, reaksi alergi kulit, dan dermatitis.<sup>29</sup>

Paparan sinar ultraviolet B (UVB) pada kulit menciptakan sejumlah respon kompleks yang melibatkan interleukin-1 (IL-1), *Reactive Oxygen Species* (ROS), dan jalur NF-kB, menghasilkan dampak yang signifikan pada kesehatan kulit. Sinarnya merangsang produksi ROS dalam sel kulit sebagai respon terhadap stres oksidatif, yang berperan dalam mengaktifasi jalur NF-kB. Ketika kulit terpapar sinar UVB, terjadi peningkatan ROS, yang kemudian memicu aktivasi jalur NF-kB. Aktivasi NF-kB ini memainkan peran kunci

dalam mengatur gen-gen yang terkait dengan produksi IL-1. IL-1, sebagai sitokin proinflamasi, kemudian dilepaskan dalam jumlah yang lebih besar sebagai respon terhadap paparan sinar UVB. IL-1 dapat memicu respon inflamasi pada kulit, yang bisa mengarah pada sunburn, kerusakan sel kulit, dan merusak integritas kulit. Ketika terjadi aktivasi berlebihan dari IL-1, yang diperparah oleh tingginya kadar ROS, ini bisa menjadi faktor kontributor pada kondisi peradangan kronis dan masalah kulit, termasuk kondisi dermatitis, penuaan dini, serta risiko peningkatan kanker kulit.<sup>1</sup>

Paparan sinar UVB pada kulit memicu respons kompleks yang melibatkan berbagai jenis sel dalam mensekresikan IL-1. Sel-sel yang terlibat dalam merespons UVB dengan melepaskan IL-1 meliputi keratinosit, sel Langerhans, fibroblas, dan sel-sel imun seperti makrofag. Keratinosit, sel-sel utama di lapisan terluar kulit, merespons paparan UVB dengan meningkatkan produksi IL-1 sebagai tanggapan terhadap kerusakan yang disebabkan oleh sinar UVB. Sel Langerhans, sel dendritik khas di epidermis, juga terlibat dalam merespons cahaya UVB dengan melepaskan IL-1 sebagai respon terhadap stres oksidatif pada kulit. Fibroblas, yang berperan penting dalam pembentukan jaringan ikat, merespons paparan UVB dengan meningkatkan produksi IL-1 untuk membantu dalam proses perbaikan dan mempertahankan struktur kulit. Makrofag, sel kekebalan yang berperan dalam pertahanan tubuh, juga dipicu oleh UVB untuk melepaskan IL-1 sebagai respons terhadap stres lingkungan dan perubahan pada kulit. Respon dari sel-sel ini mengaktifkan mekanisme pertahanan dan perbaikan pada kulit, namun produksi berlebihan IL-1 bisa

menyebabkan peradangan berlebihan, merusak integritas kulit, dan dapat berkontribusi pada masalah kulit seperti sunburn, reaksi alergi, dan penuaan dini. Pemahaman yang lebih mendalam mengenai berbagai sel yang mensekresikan IL-1 pada respons terhadap paparan UVB merupakan langkah penting dalam pengembangan terapi yang dapat mengontrol respons peradangan yang berlebihan dan mencegah kerusakan kulit yang disebabkan oleh paparan sinar UVB.<sup>30</sup>

### **2.3. Metode Analisis MMP3 dan IL-1 Menggunakan ELISA**

Metode analisis protein ELISA dari jaringan kulit dapat berkontribusi signifikan dalam riset berbagai kondisi kulit. Tahap persiapan sampel sangat penting dalam memastikan keberhasilan analisis. Setelah sampel jaringan kulit diambil, kemudian dihomogenkan menggunakan RIPA buffer yang berfungsi untuk melisiskan jaringan.<sup>31,32</sup>

Penggunaan antibodi spesifik suatu protein menyebabkan metode ini memiliki tingkat keakuratan yang tinggi dan minim bias. Langkah-langkah pelapisan dan inkubasi pada piring ELISA membentuk dasar analisis spesifik ini.<sup>33-35</sup> Pada tahap pelapisan, piring mikrotiter diisi dengan antigen yang merupakan protein dari jaringan kulit yang ingin diukur. Antibodi primer yang spesifik terhadap protein tersebut kemudian diinkubasi dengan sampel, membentuk ikatan yang dapat terdeteksi. Tahap ini memberikan dasar bagi keberhasilan analisis, dengan keberhasilan ikatan antara antigen dan antibodi menentukan akurasi hasil ELISA.

Penggunaan enzim pada antibodi primer memfasilitasi deteksi dengan menghasilkan sinyal warna atau fluoresens yang dapat diukur. Setelah pencucian untuk menghilangkan unsur nonspecific, piring diinkubasi dengan substrat enzimatik yang berubah menjadi sinyal terukur.<sup>33-35</sup> Pembacaan hasil dengan menggunakan spektrofotometer atau pembaca ELISA memberikan data kuantitatif mengenai kadar protein dalam sampel jaringan kulit.<sup>33-35</sup>

## 2.4. Kacang kedelai

### 2.3.1. Definisi Kacang Kedelai

Kacang kedelai (*Glycine max*) adalah spesies tanaman kacang-kacangan yang berasal dari Asia Timur dan kini tersebar luas di seluruh dunia. Tanaman ini dikenal karena biji-bijinya yang kaya akan protein dan memiliki berbagai kegunaan dalam pangan, pakan ternak, dan industri.<sup>36</sup>

Morfologi kacang kedelai meliputi tanaman tahunan dengan batang tegak yang bercabang, mencapai ketinggian sekitar 0,5 hingga 2 meter. Daunnya berbentuk majemuk, tersusun dari tiga daun kecil lonjong hingga ovat dengan ukuran sekitar 8-15 cm panjangnya. Kacang kedelai menghasilkan bunga yang tumbuh dalam kelompok, dengan bunga berwarna ungu atau putih. Biji kacang kedelai sendiri tumbuh dalam polong yang berjumlah dua hingga empat polong per tangkai, biasanya berisi dua hingga empat butir biji berbentuk bulat.<sup>37</sup>

Biji kacang kedelai memiliki warna yang bervariasi, mulai dari kuning hingga kecokelatan, tergantung pada varietasnya. Biji-bijinya

kaya akan protein, lemak, serat, mineral, dan fitokimia yang bermanfaat untuk kesehatan. Kacang kedelai digunakan dalam berbagai produk pangan seperti tahu, tempe, susu kedelai, minyak kedelai, dan sebagai bahan dasar dalam produksi makanan olahan.<sup>38</sup>

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>39</sup>

### 2.3.2. Profil Fitokimia Kacang Kedelai

Kedelai mengandung berbagai fitokimia yang berperan sebagai antioksidan, dengan kandungan utama yang signifikan adalah isoflavonoid. Isoflavonoid seperti genistein, daidzein, dan glycitein adalah senyawa-senyawa penting yang terdapat dalam kacang kedelai yang memiliki sifat antioksidan. Isoflavonoid ini merupakan senyawa fitoestrogen yang memiliki struktur serupa dengan hormon estrogen manusia.<sup>40</sup>

Genistein dan daidzein, khususnya, merupakan dua isoflavonoid utama yang dapat menghambat radikal bebas dan memainkan peran penting dalam perlindungan sel dari kerusakan oksidatif. Mereka bekerja dengan cara mengurangi stres oksidatif dan mengatur reaksi inflamasi di dalam tubuh.<sup>41</sup>

Selain isoflavonoid, kacang kedelai juga mengandung senyawa-senyawa antioksidan lainnya seperti asam fenolat, fitosterol, saponin, dan vitamin E. Asam fenolat bertindak sebagai antioksidan kuat yang dapat membantu melawan radikal bebas yang dapat merusak sel-sel tubuh. Fitosterol juga berperan dalam menyeimbangkan kadar kolesterol dan mendukung kesehatan jantung.<sup>42</sup>

Saponin, senyawa yang ditemukan dalam kulit kedelai, juga memiliki sifat antioksidan yang dapat melindungi tubuh dari radikal bebas dan memperkuat sistem kekebalan tubuh.<sup>43</sup>

Vitamin E, yang merupakan antioksidan yang terkenal, juga ditemukan dalam kedelai. Vitamin E membantu melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan oksidatif dan berperan dalam mempertahankan kesehatan kulit serta sistem kekebalan tubuh.<sup>44</sup>

Profil fitokimia yang kaya dalam kacang kedelai membuatnya menjadi komponen penting dalam makanan dan nutrisi yang berfokus pada perlindungan tubuh dari kerusakan oksidatif, serta dalam mempromosikan kesehatan jantung, menopang kesehatan tulang, dan dalam menjaga keseimbangan hormonal dalam tubuh. Konsumsi kacang kedelai secara

teratur dapat memberikan manfaat antioksidan yang signifikan, mendukung kesehatan secara keseluruhan, dan mengurangi risiko beberapa penyakit kronis.<sup>4</sup>

## 2.4. Dampak UVB Terhadap Kulit

### 2.4.1. Definisi sinar UV

Radiasi ultraviolet (UV) terdiri dari tiga jenis berdasarkan panjang gelombang: UVA, UVB, dan UVC. UVA memiliki rentang panjang gelombang sekitar 320-400 nanometer (nm), UVB memiliki panjang gelombang sekitar 280-320 nm, dan UVC memiliki panjang gelombang sekitar 100-280 nm. Sinar UVA dan UVB tembus hingga permukaan bumi, sedangkan UVC, diserap oleh atmosfer dan tidak mencapai permukaan Bumi.<sup>45</sup>

### 2.4.2. Dampak Paparan UVB pada Kulit

Paparan sinar UVB dapat memiliki dampak negatif yang signifikan pada kesehatan kulit dan tubuh. Meskipun UVB memiliki panjang gelombang yang lebih pendek dan sebagian besar diserap oleh lapisan terluar kulit, dampaknya bisa menjadi masalah yang serius.<sup>46</sup>

Dampak utama dari UVB adalah terbakar matahari atau sunburn. Paparan berlebihan dapat menyebabkan peradangan, kemerahan, dan iritasi pada kulit. Paparan berulang tanpa perlindungan yang memadai dapat meningkatkan risiko kanker kulit, termasuk kanker sel basal dan kanker sel skuamosa. UVB juga berperan dalam pengembangan melanoma, jenis kanker kulit yang lebih serius.<sup>47</sup>

Selain risiko kanker kulit, paparan UVB juga mempercepat proses penuaan kulit. Ini menyebabkan kerutan, kehilangan elastisitas, dan pigmentasi tidak merata. Ini dikarenakan UVB merusak kolagen, serat protein yang memberikan kekuatan dan kekenyalan pada kulit. Proses penuaan kulit ini dapat membuat kulit terlihat lebih tua dari usia sebenarnya.<sup>48</sup>

UVB juga dapat mempengaruhi sistem kekebalan kulit, melemahkan pertahanan alami terhadap infeksi dan kondisi kulit lainnya. Hal ini dapat menyebabkan reaksi alergi kulit dan dermatitis serta mengganggu keseimbangan alami kulit.<sup>49</sup>

Perlindungan terhadap paparan sinar UVB sangat penting. Menggunakan tabir surya dengan SPF yang sesuai, mengenakan pakaian pelindung, dan menghindari paparan matahari berlebihan antara pukul 10 pagi hingga 4 sore dapat membantu melindungi kulit dari dampak negatif sinar UVB. Ini penting untuk menjaga kesehatan kulit dan mengurangi risiko yang terkait dengan paparan UVB yang berlebihan.<sup>50</sup>

#### 2.4.3. Dampak Sinar UVB terhadap Penuaan Kulit

Paparan sinar ultraviolet B (UVB) berperan penting dalam proses penuaan kulit dengan mempengaruhi sejumlah proses biokimia pada tingkat seluler. Salah satu dampak utamanya adalah pengaruh terhadap enzim Matrix Metalloproteinase (MMP) yang berperan dalam pemecahan kolagen dan elastin.<sup>51</sup> Paparan UVB merangsang produksi berlebih MMP yang memicu degradasi kolagen dan elastin. Akibatnya,

struktur kulit menjadi melemah, kehilangan kekencangan, dan menyebabkan munculnya garis-garis halus serta kerutan.<sup>52</sup> Selain itu, UVB juga dapat merangsang produksi interleukin, yang merupakan sitokin proinflamasi yang memicu respon peradangan pada kulit. Proses inflamasi ini dapat mengganggu produksi kolagen normal, mempercepat kerusakan kulit, dan memperparah tanda-tanda penuaan.<sup>53</sup>

Kolagen, protein struktural penting dalam kulit, juga terpengaruh oleh paparan UVB. Kolagen mengalami degradasi dan penurunan produksi akibat pengaruh sinar UVB, mengakibatkan kehilangan kekuatan struktural dan elastisitas pada kulit. Ini menyebabkan kulit kehilangan kekencangan dan kelembapan, mempercepat proses penuaan kulit serta munculnya kerutan, garis-garis halus, serta kehilangan kekenyalan kulit secara umum. Melindungi kulit dari paparan berlebihan sinar UVB dengan penggunaan tabir surya dan penghindaran paparan sinar matahari berlebihan sangat penting untuk mencegah kerusakan pada kolagen dan elastin, serta memperlambat tanda-tanda penuaan pada kulit.<sup>54</sup>

## **2.5. Efek Sinar UV terhadap MMP-3 dan IL-1**

Paparan sinar UVB memicu serangkaian jalur molekuler kompleks dalam kulit yang melibatkan aktivasi radikal bebas, pengaturan MMP, dan produksi IL-1, yang pada akhirnya berkontribusi pada proses penuaan dan kerusakan kulit.<sup>55</sup> UVB memicu produksi radikal bebas, khususnya ROS, yang

memainkan peran sentral dalam mengubah jalur molekuler terkait peradangan. ROS memicu aktivasi jalur sinyal NF- $\kappa$ B, faktor transkripsi yang mengatur ekspresi gen, termasuk yang terlibat dalam produksi IL-1. IL-1, sebagai sitokin proinflamasi, memperkuat respons peradangan di kulit. Produksi IL-1 yang berlebihan merangsang produksi enzim MMP, terutama MMP-1, MMP-3, dan MMP-9, yang berperan dalam degradasi kolagen dan elastin.<sup>56</sup> Aktivitas MMP yang meningkat akibat paparan UVB menyebabkan kerusakan struktural pada kulit, merusak jaringan ikat dan mempercepat tanda-tanda penuaan seperti kerutan, kehilangan elastisitas, dan kekencangan kulit.<sup>57</sup> Jalur molekuler yang teraktivasi oleh paparan UVB, melalui produksi ROS, aktivasi NF- $\kappa$ B, produksi IL-1, dan aktivasi MMP, berkontribusi pada perubahan signifikan dalam keseimbangan normal kulit, mengakibatkan kerusakan struktural yang pada akhirnya mempengaruhi kesehatan kulit secara keseluruhan.<sup>58</sup>

## **2.6 Efek Ekstrak Kacang Kedelai Terhadap MMP-3 dan IL-1**

Kandungan fitokimia kacang kedelai, seperti genistein dan daidzein, memiliki efek potensial terhadap MMP dan IL-1 melalui jalur molekuler yang kompleks.<sup>4</sup> Genistein, salah satu isoflavon utama dalam kacang kedelai, telah terbukti memiliki kemampuan menghambat aktivitas MMP yang merupakan enzim yang terlibat dalam degradasi kolagen dan elastin dalam kulit. Genistein ditemukan mampu menghambat ekspresi gen MMP dan mempengaruhi jalur sinyal yang mengatur aktivitas enzim ini sehingga memberikan efek perlindungan terhadap kerusakan struktural kulit yang disebabkan oleh paparan sinar UVB.<sup>59</sup> Di sisi lain, fitokimia kacang kedelai telah menunjukkan potensi

dalam menekan ekspresi IL-1. Daidzein, salah satu komponen kunci kacang kedelai, telah menunjukkan kapasitasnya dalam menghambat produksi IL-1, mengurangi respons inflamasi yang berlebihan dan potensial meredakan peradangan kulit.<sup>60</sup>

Pengaruh fitokimia dalam kacang kedelai terhadap jalur molekuler MMP dan IL-1 menunjukkan potensi besar dalam melindungi dan mempertahankan kesehatan kulit. Kemampuan genistein dalam menghambat aktivitas MMP memberikan perlindungan struktural terhadap kolagen dan elastin, sementara daidzein menunjukkan kemampuan dalam menekan respons inflamasi dengan mengurangi ekspresi IL-1.<sup>59</sup>

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-1. Kandungan fitokimia kacang kedelai, terutama isoflavonoid seperti genistein dan daidzein, telah terbukti memiliki kemampuan dalam mempengaruhi diferensiasi dan aktivitas makrofag.<sup>61,62</sup> M1 makrofag dikaitkan dengan produksi IL-1 dan aktivasi MMP, yang mengarah pada peradangan dan degradasi kolagen pada kulit.<sup>63</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-1.<sup>15</sup> Dengan demikian, kacang kedelai dapat memainkan peran penting dalam meredakan peradangan dan menekan produksi MMP serta IL-1 dengan mengatur polarisasi makrofag,

mempromosikan respons yang lebih seimbang dan mendukung kesehatan jaringan.



## BAB III

### KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

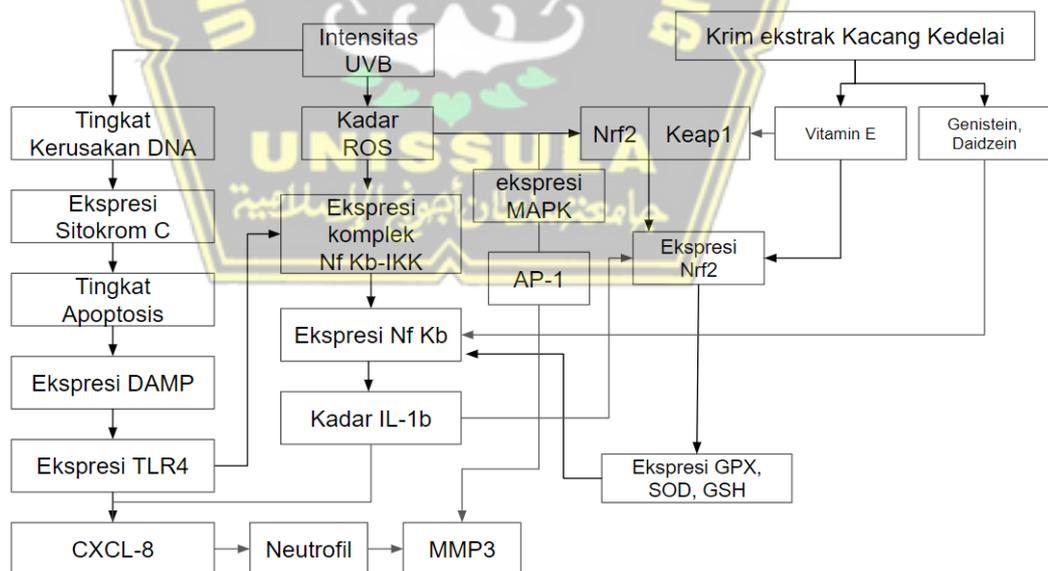
#### 3.1 Kerangka Teori

Penuaan kulit disebabkan oleh ketidakseimbangan antara akumulasi dan degradasi komponen matriks ekstraseluler yang mendukung fungsionalitas dan struktur jaringan kulit. Ekstrak kedelai dikenal mengandung zat aktif sebagai antiinflamatori dan antioksidan yang mampu menghambat produksi ROS akibat paparan UVB dan jalur inflamasi yang diatur oleh tirosin kinase. Studi sebelumnya menegaskan bahwa kacang kedelai dapat mengurangi dampak negatif penuaan dan kerusakan yang diakibatkan oleh sinar UVB, bertindak sebagai agen antiinflamasi dan antioksidan

Paparan sinar ultraviolet B (UVB) memicu serangkaian reaksi kompleks dalam kulit, dimulai dengan peningkatan produksi ROS. ROS, sebagai mediator penting, mengaktifkan jalur sinyal yang mempengaruhi faktor transkripsi seperti AP-1 dan NF- $\kappa$ B. ROS mengaktifkan AP-1 melalui aktivasi mitogen-activated protein kinase (MAPK), khususnya extracellular signal-regulated kinase (ERK), p38, dan c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase (JNK). Aktivasi AP-1 melalui ROS memicu transkripsi gen matrix MMP-3 yang berkontribusi pada degradasi jaringan kolagen pada kulit. Selain itu, paparan UVB juga memicu aktivasi NF- $\kappa$ B melalui peningkatan produksi ROS. NF- $\kappa$ B merangsang produksi sitokin proinflamasi, seperti IL-1, yang terlibat

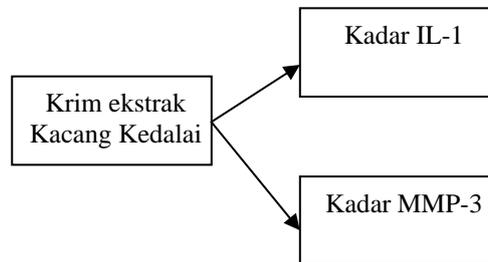
dalam respons inflamasi di kulit. Aktivasi IL-1 oleh NF- $\kappa$ B mempengaruhi proses peradangan, menyebabkan efek negatif pada kesehatan kulit dan berkontribusi pada proses penuaan, sementara aktivasi AP-1 yang disebabkan oleh ROS dan UVB membantu regulasi MMP-3, yang pada gilirannya memengaruhi kesehatan jaringan kolagen dalam kulit.

Ekstrak Kacang Kedelai mengandung flavonoid seperti daidzein dan genestein serta Vitamin E yang sangat tinggi dan menurut penelitian terdahulu mampu mengaktifasi factor transkripsi Nrf-2. Faktor transkripsi ini kemudian memicu produksi enzim antioksidan seperti SOD, GPx, dan GSH yang dapat mengurangi kadar ROS. Hal ini berujung pada kembalinya keseimbangan ROS dalam jaringan dan terhentinya kaskade produksi IL-1 dan MMP-3.



Gambar 3. 1. Kerangka Teori

### 3.2 Kerangka konsep



Bagan 1. Kerangka Konsep

### 3.3 Hipotesis

Pemberian krim EKK dapat menurunkan kadar MMP-3 dan menurunkan kadar IL-1 pada Mencit Balb/c yang diinduksi sinar UVB dibanding kontrol.



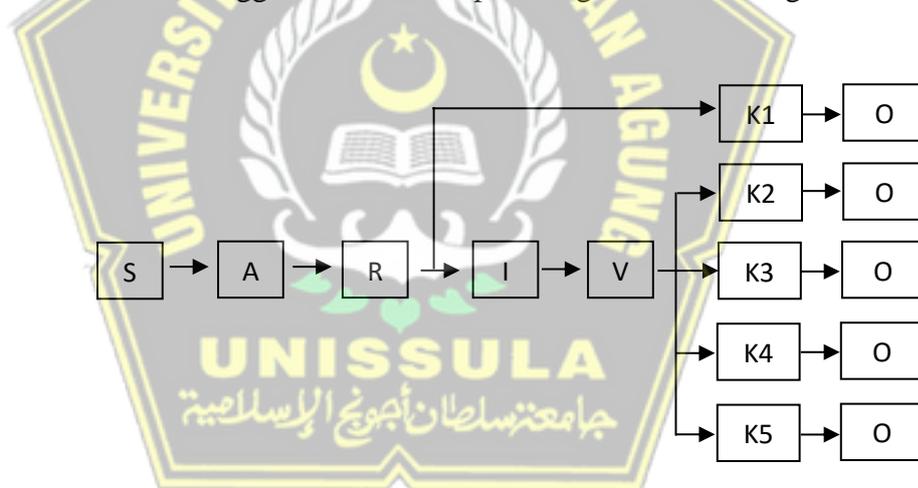
## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 1.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian penelitian ini adalah penelitian eksperimental *in-vivo* yang menggunakan rancangan penelitian berupa *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 2. Rancangan Penelitian

Keterangan :

P = Populasi

S = Sampel

R = Random

K1 = mencit sehat tidak diberi perlakuan

K2 = mencit dipapar UVB tanpa diberi perlakuan

K3 = Mencit dipapar UVB diberi krim Vitamin E

K4 = Mencit dipapar UVB diberi krim ekstrak kedelai dosis 10%

K5 = Mencit dipapar UVB diberi krim ekstrak kedelai dosis 20%

O = Observasi IL-1 dan kadar MMP-3

## 1.2. Variabel penelitian dan definisi operasional

### 4.2.1 Variabel penelitian

#### a. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak kacang kedelai dosis 10% dan 20%

#### b. Variabel Perantara

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar IL-1

#### c. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah MMP-3

#### d. Variabel Prakondisi

Variabel prakondisi dalam penelitian ini adalah Sinar UVB

#### e. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah strain mencit BALB/c, umur, jenis kelamin, berat badan, nutrisi/pakan mencit, dan kondisi lingkungan tempat pemeliharaan hewan coba.

#### 4.2.2 Definisi Operasional Variabel

##### a. Ekstrak kacang kedelai

Ekstrak kedelai produk konsentrat yang dihasilkan melalui maserasi tepung kedelai menggunakan alkohol 96% selama 48 jam, dan diikuti dengan evaporasi untuk menghilangkan sebagian besar pelarut, menghasilkan substansi yang kaya akan senyawa kedelai. Ekstrak kacang kedelai dicampur dengan *shea butter* sebagai *base cream* dengan formula 20 gr EKK dan 180 Shea butter dan 40 gr EKK dan 160 Shea butter untuk dosis masing 10% dan 20%. Krim EKK dibuat di SCCR Indonesia yang diberikan secara topikal pada punggung mencit balb/c yang sudah dicukur dengan skala mg (miligram) dengan skala rasio

##### b. Kadar Interleukin-1

IL-1, atau Interleukin-1, adalah sitokin pro-inflamasi yang diproduksi oleh sel-sel sistem kekebalan tubuh. Ini berperan dalam merangsang peradangan dan respons imun, serta berperan penting dalam berbagai penyakit inflamasi. Pembacaan kadar IL-1 dilakukan dari sampel jaringan kulit yang diambil pada hari ke-15 dengan metode ELISA yang dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm. Satuan dari kadar IL-1 adalah pg/mL dengan skala ratio.

c. Kadar MMP-3

MMP-3 adalah enzim yang terlibat dalam perombakan matriks ekstraseluler. Analisis MMP-3 dilakukan dari sampel plasma karingan kulit menggunakan ELISA yang dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm. Satuan dari kadar MMP-3 adalah pg/mL dengan skala ratio.

d. Sinar UV B

Dalam penelitian ini, sinar UVB merujuk kepada radiasi UVB yang dihasilkan oleh perangkat UVB narrowband tipe TL-F72-100W/12. Paparan sinar UVB dilakukan sebanyak lima kali per minggu selama dua minggu. Dosis paparan sinar UVB setara dengan 1 MED dan durasi setiap paparan adalah 8 menit dengan jarak 20 cm.

### 1.3. Subyek penelitian dan sample penelitian

#### 4.3.1 Subyek penelitian

Hewan percobaan yang dipakai dalam studi ini adalah mencit betina BALB/c, berusia 6-8 minggu, dengan berat 18-35 gram, diakui layak oleh staf dokter hewan dari animal house integrated biomedical laboratory, Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung Semarang. Mencit ditampung dalam ruangan yang mempunyai ventilasi memadai, dengan suhu antara 28-32°C di fasilitas laboratorium. Mencit diberi

makanan pellet dan air putih secara mencukupi. Sebelum perlakuan, mencit diaklimatisasi dalam kandang selama 1 minggu.

#### 4.3.2 Sampel Penelitian

##### 4.3.2.1 Kriteria inklusi

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

##### 4.3.2.2 Kriteria Eksklusi

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

##### 4.3.2.3 Kriteria Drop Out

- a) Mencit mengalami infeksi atau
- b) Mencit mati selama penelitian.

### 1.4. Besar Sampel

Penentuan besaran 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:

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

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

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75 \rightarrow 5 \text{ (pembulatan)}$$

Berdasarkan hitungan tersebut, jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian adalah 5 ekor per perlakuan. Untuk mengantisipasi mortalitas yang pada mencit, setiap kelompok ditambahkan 10% hewan coba tiap perlakuan,

atau setara dengan 1 ekor penambahan per kelompok. Sehingga total mencit betina BALB/C yang digunakan adalah 30 ekor.

## 1.5. Alat dan Bahan

### 1.5.1. Alat penelitian

Alat yang digunakan untuk proses ekstraksi dalam penelitian ini antara lain penggiling Biji Untuk menggiling biji kedelai menjadi bentuk yang lebih halus, Pengaduk/Pencampur: Digunakan untuk mencampur biji kedelai dengan pelarut yang sesuai untuk ekstraksi, rotary evaporator untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang diinginkan dari biji kedelai dengan menggunakan pelarut tertentu. Sentrifuge untuk memisahkan antara ekstrak dan residu yang tidak larut. Alat Pemanas digunakan untuk pemanasan atau evaporasi pelarut dari ekstrak, meninggalkan senyawa yang diinginkan.

Alat-alat yang digunakan dalam percobaan menggunakan mencit termasuk kandang, tempat pakan dan minum, alat cukur, sarung tangan, tempat fiksasi, dan timbangan analitik. Ini bertujuan untuk perawatan dan penanganan hewan coba. Untuk pembuatan preparat, peralatan seperti objek glass, kaca penutup, pisau scalpel, pinset, talenan, saringan, tissue, freezer (-20°C), mesin microtome, waterbath 46°C, mesin processor otomatis, mesin vacuum, dan mesin bloking digunakan

untuk proses persiapan sampel. Dalam analisis ELISA, alat yang diperlukan meliputi assay plate, mikropipet single, mikropipet multipel, inkubator, tabung eppendorf, dan vorteks untuk analisis zat kimia dan reaksi biokimia tertentu. Paparan sinar UVB, digunakan lampu khusus tipe Narrowband TL-F72-100W/12, sedangkan pengukur dosis radiasi (Dosimetri) digunakan untuk mengontrol dosis yang diberikan

#### 1.5.2. Bahan penelitian

Penelitian ini melibatkan sejumlah bahan dan peralatan penting. Kacang kedelai yang digunakan berasal dari Kabupaten Demak. *Shea butter pharmaceutical grade* digunakan sebagai basis formulasi untuk dicampur dengan kacang kedelai pada dosis 10% dan 20%. Larutan standar, diluent assay A dan B, serta konsentrat larutan pencuci (*Wash Buffer Concentrate*) dengan standar analisis digunakan untuk proses analisis. Adapun substrat solution A dan B, stop solution, plate sealer, serta aquabides teknis juga menjadi bagian penting dari rangkaian peralatan yang digunakan dalam eksperimen ini.

#### 1.6. Cara Penelitian

##### 1.6.1. Ethical clearance

Penelitian dimulai dengan penyerahan permohonan persetujuan etik ke Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung

Semarang. Hal ini dilakukan setelah persetujuan proposal penelitian dari pembimbing dan penguji diperoleh.

#### 1.6.2. Pembuatan Ekstrak

Biji kedelai yang telah dikeringkan dan memiliki kadar air <5% ditepungkan dengan mesin penepung menjadi simplisia biji kedelai. Simplisia kemudian direndam dalam etanol 70% dan diaduk selama 48 jam untuk proses maserasi dan diendapkan selama 12 jam. Setelah itu ekstrak yang telah terlarut dalam alkohol diambil dan disaring menggunakan kertas saring. Setelah itu hasil penyaringan dimasukkan dalam labu evaporator untuk kemudian dilakukan evaporasi untuk memisahkan etanol dan ekstrak. Evaporasi dilakukan pada suhu 60°C dengan bantuan *vacuum pump* dan *chiller*. Setelah terpisah, ekstrak diambil dan disimpan dalam suhu 2-8°C untuk pencampuran dengan *base cream*.

#### 1.6.3. Pembuatan Krim

Pembuatan krim dilakukan dengan mencampur *Shea Butter* sebagai base cream dengan ekstrak kedelai masing-masing sebesar 10% dan 20% untuk K4 dan K5. Krim dicampur secara merata dan setelah berhasil dibuat pH krim diukur menggunakan pH meter dan harus menunjukkan pH 7-7.5 dan kemudiandisimpan dalam suhu 2-8°C hingga perlakuan diberikan.

#### 1.6.4. Penyinaran UVB pada subyek penelitian

Setelah mencit diadaptasi selama 7 hari, selanjutnya, mencit dibius menggunakan campuran ketamine (60mg/kgbb) dan xylazine (20mg/kgbb) secara intramuscular dengan dosis 0,5 ml. Setelah itu, rambut di bagian punggung mencit dicukur dengan ukuran 2 x 3 cm.

Selanjutnya mencit diberi paparan sinar UVB pada area yang telah bersih dari rambut dengan jarak 20 cm, dengan dosis minimal erythema (1 MED 150mJ/cm<sup>2</sup>) selama 8 menit, dilakukan 5 kali dalam seminggu selama 14 hari.

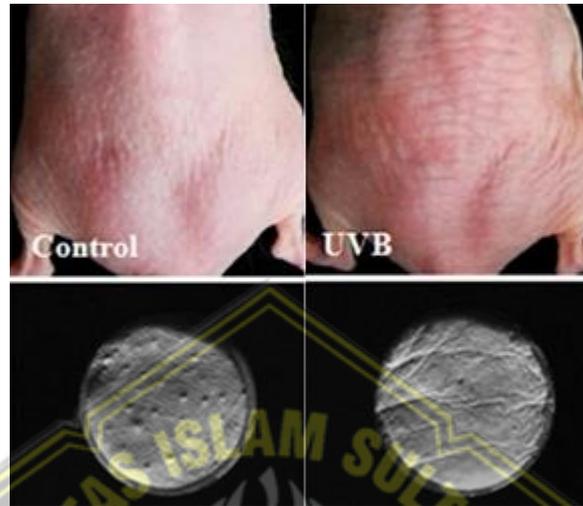
Setelah dilakukan penyinaran UVB, mencit kemudian diberikan perlakuan, dengan ketentuan mencit perlakuan kontrol positif diberi krim vitamin E, sedangkan mencit perlakuan 1 dan 2 diberi ekstrak kacang kedelai dengan dosis 10% dan 20% secara topikal sekali sehari selama 14 hari.

#### 1.6.5. Validasi Hewan Coba

##### a. Makroskopis

Validasi makroskopis dilakukan untuk mengetahui secara klinis bahwa penyinaran UVB untuk mendapatkan model hewan coba *photodamage* telah berhasil. Validasi dilakukan dengan pemeriksaan langsung terhadap kulit secara visual untuk mengetahui ada tidaknya *photodamage* pada hewan coba yang diberi UVB dibandingkan dengan

mencit yang tidak diberi UVB. Secara visual hasil yang diharapkan adalah sebagaimana yang ditampilkan pada gambar 4.1.



Gambar 4. 1. 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

Langkah-langkah pengecatan Masson's Trichrome merupakan teknik pewarnaan histologi yang digunakan untuk menyoroti kolagen pada jaringan. Langkah-langkahnya adalah sebagai berikut:

1. Fiksasi: Langkah pertama adalah memperbaiki atau mempertahankan struktur jaringan dengan menggunakan larutan fiksatif seperti formalin.
2. Dehidrasi: Proses ini melibatkan penghilangan air dari jaringan dengan melalui serangkaian tahap pengurangan kadar etanol

bertingkat, yang bertujuan untuk mempersiapkan jaringan untuk proses pewarnaan.

3. Pembedahan dan Pemblokiran: Jaringan diproses untuk memungkinkan pemeriksaan mikroskopis. Proses ini melibatkan memotong jaringan menjadi bagian tipis dan menempatkannya pada slide mikroskopis.
4. Pembasahan (Hydration): Setelah dehidrasi, jaringan dikembalikan ke keadaan aslinya dengan menambahkan air atau melalui proses hidrasi bertingkat.
5. Pewarnaan Masson Trichrome:
  - a. Pewarnaan Keratohematoxylin (Nuklei): Jaringan direndam dalam larutan hematoxylin yang menyoroti inti sel.
  - b. Pewarnaan Sutera/Trichrome: Jaringan kemudian direndam dalam larutan yang mengandung pewarna anilin biru dan asam sirih, menyoroti sitoplasma dan struktur lainnya.
  - c. Pewarnaan Orange G: Dilakukan untuk memisahkan struktur kolagen dengan pewarnaan menggunakan Orange G.
  - d. Pewarnaan Asam Fuchsin: Pewarnaan ini membantu menyoroti sel-sel otot dan serat jaringan.
  - e. Pembasahan Akhir dan Dehidrasi: Setelah pewarnaan, langkah akhir melibatkan proses pembersihan dan penghilangan air dari jaringan.

6. Penggunaan Sealer (Penutup): Langkah terakhir adalah menutup slide dengan sealant untuk melindungi pewarnaan dan jaringan.
7. Setelah langkah-langkah ini selesai, jaringan siap untuk diperiksa di bawah mikroskop untuk mempelajari komposisi dan struktur jaringan, khususnya elastin yang berwarna merah pada pengecatan masson trichome.



Gambar 4. 2. Pengecatan Masson Trichome pada mencit yang di papir sinar UV dan yang tidak di papir sinar UV

#### 1.7. Langkah Penelitian dilakukan sebagai berikut :

1. Persiapkan 30 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 mencitt dengan sinar UVB 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-1 dan MMP-3 menggunakan ELISA adalah sebagai berikut<sup>64</sup>
  - a. Pembuatan Standar: Persiapan standar yang mengandung kadar yang diketahui dari MMP-3 untuk membuat kurva standar.
  - b. Blocking (Blokir): Tahap untuk mencegah ikatan nonspecific dengan menutup sisa-sisa area kosong pada mikrotiter plate.
  - c. Pemberian Sampel dan Kontrol: Penambahan sampel (serum, plasma, atau supernatan sel) yang akan diuji, serta kontrol positif dan negatif.
  - d. Inkubasi: Inkubasi plate sehingga MMP-3 dari sampel dan standar tertangkap oleh antibodi yang terdapat pada plate.
  - e. Cucian (Washing): Membersihkan mikrotiter plate dari zat-zat yang tidak terikat.
  - f. Pemberian Antibodi Deteksi (Detection Antibody): Menambahkan antibodi deteksi spesifik terhadap MMP-3 yang terikat pada target.

- g. Penambahan Enzim Konjugat: Menambahkan enzim yang terikat pada antibodi deteksi.
- h. Pemberian Substrat: Penambahan substrat enzimatik yang akan menghasilkan sinyal berwarna.
- i. Pemberhentian Reaksi dan Pembacaan: Reaksi dihentikan dan intensitas warna diukur dengan spektrofotometer.
- j. Analisis Data: Hasil absorbansi diplot pada kurva standar untuk menentukan kadar MMP-3 dalam sampel.

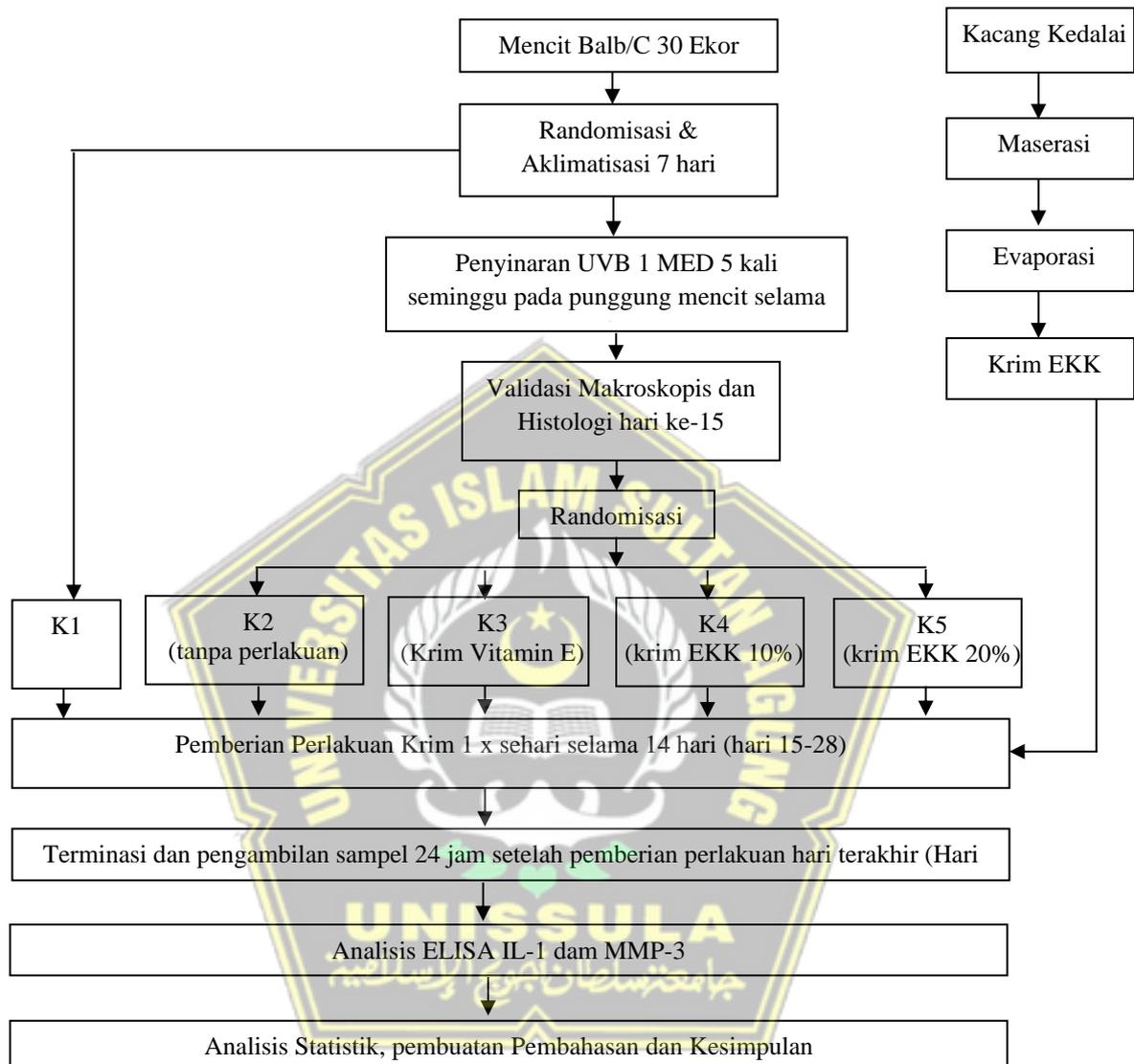
#### 1.8. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan persetujuan *Ethical Clearance* FK Unissula Semarang dengan No. 76/II/2018/Komisi Bioetik. Pembuatan ekstrak dan krim ekstrak kedelai dilakukan di Laboratorium SCCR Indonesia Semarang. Pemeliharaan, induksi hewan coba, dan perlakuan hewan coba dilakukan di Animal Model Research Center SCCR Indonesia. Penelitian dilakukan pada bulan November-Desember 2023.

#### 1.9. Analisa Data

Data kadar MMP-3 dan IL-1 mencit penelitian ini dianalisis menggunakan uji deskriptif. Setelah itu, dilakukan analisis normalitas dan homogenitas data menggunakan uji Shapiro-Wilk dan Levene's Test. Data kemudian dilanjutkan analisis menggunakan uji One-Way ANOVA dengan uji Post Hoc LSD dengan nilai signifikansi  $p < 0,05$ .

#### 4.10 Alur Penelitian



Bagan 3. Alur Penelitian

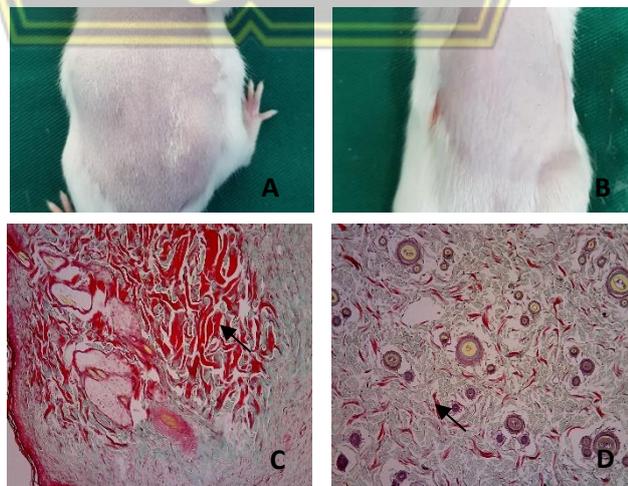
## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1 Hasil Penelitian

##### 5.1.1. Validasi Mencit Model Kerusakan Kulit akibat Paparan UVB

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi dampak krim ekstrak kacang kedelai terhadap tingkat IL-1 dan MMP-3 pada 30 mencit betina Balb/c. Mencit sebelumnya dipapar dengan sinar UVB dengan dosis minimal 1 MED pada jarak 20 cm selama 8 menit, dilakukan 5 kali dalam seminggu. Observasi secara visual dilakukan untuk mengamati kemunculan kerutan sebagai hasil dari paparan UVB. Hasil observasi menunjukkan bahwa terdapat kerutan yang lebih terlihat pada mencit yang terpapar UVB jika dibandingkan dengan yang tidak terpapar, sebagaimana tergambar dalam Gambar 5.1. Hasil analisis anatomi menunjukkan penurunan ekspresi elastin setelah paparan, sebagaimana yang terlihat pada Gambar 5.1.



Gambar 5.1 Secara makroskopis terlihat tidak terdapat kerutan pada mencit yang tidak terpapar UVB (A) dibandingkan dengan yang terpapar UVB (B). Densitas elastin yang terlihat sebagai warna merah (panah hitam) lebih tinggi pada kelompok tanpa paparan UVB (C), dibanding dengan kelompok dengan paparan UVB (D)

Kelompok mencit yang telah tervalidasi mengalami penurunan elastin pasca paparan UVB dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan antara lain, mencit sehat tanpa paparan UVB digunakan sebagai kelompok kontrol sehat (K1) kelompok Kontrol Negatif (K2) diberikan sinar UVB dan diberi basis krim, kelompok Kontrol Positif (K3) diberikan sinar UVB dan diberi krim Vitamin E, kelompok perlakuan 1 dan 2 (K4 dan K5) diberi sinar UVB dan diberi EKK dosis masing-masing 10% dan 20%. Pemberian perlakuan 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 kadar Kadar IL-1 dan MMP-3 menggunakan metode ELISA.<sup>3,4</sup>

### 5.1.2. Interleukin 1 (IL-1)

Hasil analisis kadar IL-1 ditunjukkan pada tabel 5.1. Berdasarkan hasil analisis ditemukan bahwa kelompok Sehat (K1) memiliki kadar IL-1 terendah ( $46,6 \pm 5,2$  ng/mL) yang kemudian diikuti oleh K5 ( $59,8 \pm 11,0$  ng/mL), K3 ( $61,2 \pm 10,3$  ng/mL), dan K4 ( $124,2 \pm 7,6$  ng/mL) sementara kelompok K2 memiliki kadar IL-1 tertinggi ( $237,3 \pm 16,9$  ng/mL). Kadar IL-1 menurun pada kedua dosis krim ekstrak kacang kedelai jika dibandingkan dengan kelompok K2. Uji Shapiro-Wilk digunakan untuk mengevaluasi normalitas distribusi data kadar IL-1 di setiap kelompok. Hasil uji Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa distribusi data kadar IL-1 dalam kelima kelompok tersebut memenuhi asumsi normalitas ( $P > 0,05$ ). Untuk kelima kelompok, uji homogenitas varians data dilakukan dengan menggunakan uji Levene, dan hasilnya menunjukkan bahwa nilai P lebih besar dari 0,05.

Tabel 5. 1. Data Hasil Analisis Kadar IL-1

VARIABEL	Kelompok					P
	K1 (ng/mL)	K2 (ng/mL)	K3 (ng/mL)	K4 (ng/mL)	K5 (ng/mL)	
	Rerata±SD	Rerata±SD	Rerata±SD	Rerata±SD	Rerata±SD	
IL-1	46,6±5,2	237,3±16,9	61,2±10,3	124,2±7,6	59,8±11,0	
Shapiro wilk						>0,05
Lavene test						0,227
One Way Anova						0,000

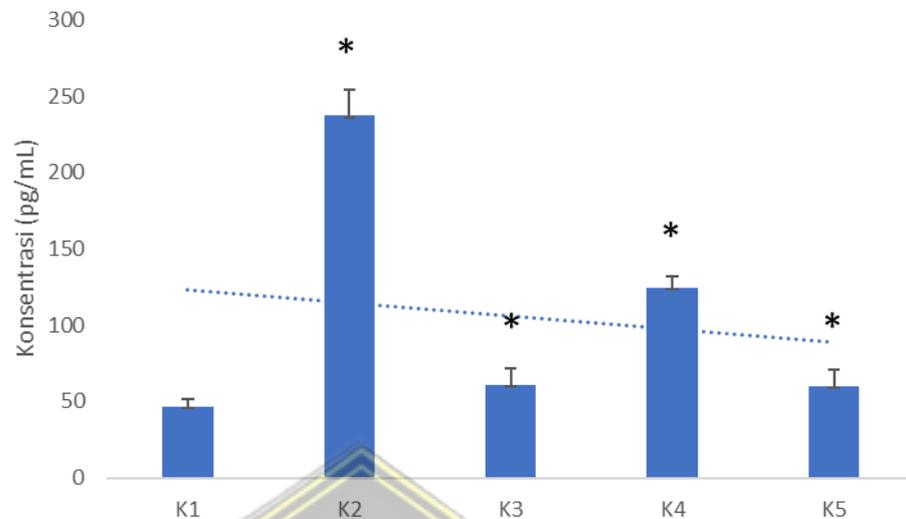
Terhadap kelima kelompok, dilakukan uji statistic parameterik dengan syarat memenuhi data distribusi normal dan homogen ( $P > 0,05$ ), maka dilakukan uji One Way ANOVA dan didapatkan dengan  $P < 0,05$  yang dapat

dilihat pada table 5.1. Hal berarti bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dalam kadar IL-1 dan selanjutnya untuk melihat perbedaan antar kelompok dilakukan uji Post Hoc LSD, lihat Tabel 5.2.

Tabel 5. 2. Perbedaan rerata kadar IL-1 antar dua kelompok dengan Uji Post hoc LSD

	K1	K2	K3	K4	K5
K1	-	0,000	0,030	0,000	0,048
K2	0,000	-	0,000	0,000	0,000
K3	0,030	0,000	-	0,000	0,825
K4	0,000	0,000	0,000	-	0,000
K5	0,048	0,000	0,825	0,000	-

Hasil uji post hoc LSD kadar IL-1 menunjukkan bahwa nilai  $p < 0,05$  untuk semua kelompok jika dibandingkan dengan kelompok K1. Hasil analisis juga menunjukkan bahwa kelompok K4 dan K5 yang menerima ekstrak kedelai menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan K2 ( $P < 0,05$ ). Selain itu, K4 berbeda secara signifikan dibanding K3 ( $P < 0,05$ ), namun disisi lain K5 tidak berbeda secara signifikan dibandingkan dengan kelompok K3 ( $P > 0,05$ ). Data juga mengindikasikan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara kelompok K4 dan K5 ( $P < 0,05$ ).



Keterangan : \* = Signifikan dibandingkan dengan K2,

Garis putus = garis tren

Gambar 5.2. Grafik Kadar IL-1 pascapemberian krim ekstrak kedelai pada mencit yang terpapar UVB

### 1.1.1. Matriks Metalloproteinase-3

Data analisis kadar MMP-3 yang ditampilkan dalam Tabel 5.2 menunjukkan bahwa Kelompok Kontrol Negatif (K2) memiliki kadar MMP-3 tertinggi ( $3,45 \pm 1,01$  pg/mL), sedangkan kelompok vitamin E menunjukkan kadar MMP-3 terendah ( $0,84 \pm 0,08$  pg/mL), diikuti oleh kelompok K1 ( $0,96 \pm 0,07$  pg/mL), sedangkan kelompok K4 dan K5 masing-masing memiliki kadar MMP-3 sebesar  $2,29 \pm 0,53$  pg/mL dan  $1,1 \pm 0,39$  pg/mL. Hasil uji Shapiro-Wilk dan Levene test menunjukkan bahwa nilai P untuk kelima kelompok tersebut lebih besar dari 0,05,

menunjukkan bahwa sebaran data kadar MMP-3 dalam kelima kelompok tersebut adalah normal dan kelompok homogen.

Tabel 5. 3. Data Hasil Analisis Kadar MMP-3

VARIABEL	Kelompok					P
	K1 (ng/mL)	K2 (ng/mL)	K3 (ng/mL)	K4 (ng/mL)	K5 (ng/mL)	
	Rerata±SD	Rerata±SD	Rerata±SD	Rerata±SD	Rerata±SD	
MMP-3	0,96±0,07	3,45±1,01	0,84±0,08	2,29±0,53	1,1±0,39	
Shapiro wilk						>0,05
Lavene test						>0,05
One Way Anova						0,000

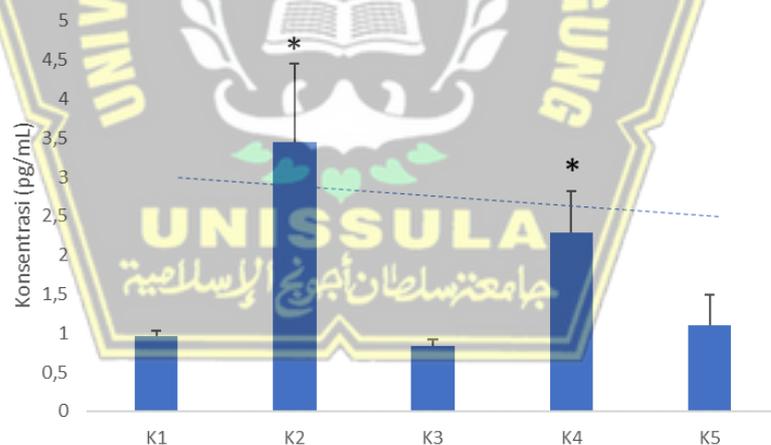
Berdasarkan data yang bersifat normal dan homogen, uji parametrik One Way Anova digunakan untuk mengetahui perbedaan rata-rata kadar MMP-3 di antara empat kelompok. Berdasarkan hasil uji One Way Anova yang menghasilkan P sebesar 0,000, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan dalam kadar MMP-3 pada setidaknya dua kelompok. Uji Post hoc LSD dilakukan untuk menunjukkan perbedaan dalam kadar MMP-3 antar dua kelompok dan hasil ditampilkan pada Table 5.4

Tabel 5. 4. Perbedaan rerata kadar MMP-3 antar dua kelompok dengan Uji Post hoc LSD

	K1	K2	K3	K4	K5
K1	-	0,000	0,695	0,000	0,666
K2	0,000	-	0,000	0,001	0,000

K3	0,695	0,000	-	0,000	0,417
K4	0,000	0,001	0,000	-	0,001
K5	0,666	0,000	0,412	0,001	-

Dari hasil uji post hoc LSD pada kadar MMP-3, ditemukan bahwa nilai  $p < 0,05$  untuk K2 dan K4 dan  $p > 0,05$  untuk K3 dan K5 apabila dibandingkan dengan kelompok K1. Hal ini menunjukkan bahwa K3 dan K5 mampu menurunkan MMP-1 hingga mendekati tikus sehat. Terlihat bahwa pola penurunan tersebut berdasarkan dosis, di mana dosis yang lebih tinggi menghasilkan penurunan kadar MMP-3 yang juga signifikan, seperti yang tergambar pada Gambar 5.3.



Keterangan : \* = Signifiikan dibandingkan dengan K2,

Garis putus = garis tren

Gambar 5.2. Pola penurunan yang ditunjukkan adalah dose dependent manner dimana dosis tertinggi menghasilkan penurunan kadar MMP-3 yang signifikan

## 5.2 Pembahasan Hasil Penelitian

Hasil penelitian menunjukkan bahwa krim ekstrak kedelai pada 10% dan 20%, efektif dalam menurunkan kadar IL-1, namun hasil ini belum dapat menyamai hasil *gold standar*. Kemudian hasil kadar MMP3 menunjukkan bahwa kadar 10% dan 20% mampu menurunkan kadar MMP3, namun hanya kadar 20% yang mampu menurunkan kadar MMP-3 hingga sama dengan hasil *gold standar*. Penelitian terdahulu menemukan bahwa EKK mampu menurunkan kadar MMP pada kadar 16%, hal ini menunjukkan bahwa kadar 10% masih belum cukup dalam menurunkan kadar MMP.<sup>65</sup>

Paparan sinar UV pada kulit dapat menyebabkan serangkaian perubahan kompleks sebagai respons terhadap paparan tersebut yang dapat menyebabkan kerusakan kulit, termasuk kerutan. Paparan ini dapat mengakibatkan kerusakan pada DNA, yang menyebabkan aktivasi sitokorn C oleh mitokondria yang berujung pada apoptosis. Apoptosis kemudian akan menyebabkan terbentuknya DAMP yang memicu inflamasi dan juga berdampak pada meningkatkan produksi sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 di kulit.

Paparan sinar ultraviolet B (UVB) pada kulit dapat memicu serangkaian jalur molekuler yang mengarah pada produksi interleukin-1 (IL-1). UVB menyebabkan kerusakan pada DNA kulit, yang memicu respons antioksidan dan inflamasi. Salah satu jalur yang terlibat adalah aktivasi NF- $\kappa$ B, yang diinduksi oleh ROS yang dihasilkan akibat kerusakan

DNA. Aktivasi NF- $\kappa$ B memicu transkripsi gen IL-1, sehingga meningkatkan produksi dan sekresi IL-1 oleh sel-sel kulit dan sel-sel imun. Selain itu, UVB juga dapat mengaktifkan jalur JNK (c-Jun N-terminal Kinase) dan p38 MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase), yang juga berperan dalam meningkatkan ekspresi IL-1. Aktivasi jalur molekuler ini oleh paparan UVB menghasilkan peningkatan produksi IL-1, yang kemudian dapat memicu respons inflamasi dan menyebabkan kerusakan kulit yang lebih lanjut, termasuk terjadinya photoaging dan risiko terjadinya kanker kulit.<sup>9,11</sup>

Kacang kedelai mengandung vitamin E dan flavonoid yang memiliki kemampuan untuk menekan produksi IL-1 dalam jalur molekuler yang terlibat. Vitamin E, sebagai antioksidan, membantu melindungi sel-sel kulit dari kerusakan yang disebabkan oleh sinar UVB dan mengurangi aktivasi NF- $\kappa$ B, yang mengurangi produksi IL-1. Sementara flavonoid, seperti genistein, dapat menghambat jalur NF- $\kappa$ B dan MAPK, sehingga mengurangi kadar IL-1. Kombinasi kandungan ini dalam kacang kedelai berpotensi mengurangi respons inflamasi pada kulit yang disebabkan oleh paparan sinar UVB, dan dapat memiliki manfaat dalam mencegah kerusakan kulit serta penuaan kulit yang dipercepat.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bersamaan dengan penurunan kadar IL-1 terdapat penurunan kadar MMP-3 pasca pemberian EKK pada kadar 20%. Penurunan IL-1 diketahui dapat menghambat produksi matrix metalloproteinase-3 (MMP-3) melalui jalur protein NF- $\kappa$ B dan MAPK.

Penelitian terdahulu melaporkan bahwa NF-kB adalah faktor transkripsi yang mengatur ekspresi gen MMP-3. Aktivasi NF-kB dipicu oleh berbagai rangsangan, termasuk IL-1, yang memicu translokasi NF-kB ke inti sel untuk menginduksi transkripsi MMP-3. Di sisi lain, Nf-kB juga memicu aktivasi MAPK yang berujung pada aktivasi factor transkripsi ERK1/2, JNK, dan p38, yang berperan merangsang transkripsi MMP-3. Oleh karena itu, penurunan aktivitas IL-1 yang berdampak pada penekanan NF-kB dan MAPK dapat mengurangi ekspresi MMP-3.

Enzim MMP-3 berperan dalam degradasi kolagen, sehingga penurunan MMP-3 dapat menjadi penanda terdapat pengurangan degradasi MES dan memperlambat proses kerutan kulit. Oleh karena itu, penekanan produksi IL-1 pada pemberian EKK dapat menjadi strategi yang efektif untuk menghambat peningkatan ekspresi MMP-3 dan mengurangi kerusakan MES yang terkait dengan penuaan kulit. Temuan ini memberikan dasar untuk pengembangan terapi berbasis kacang kedelai untuk perawatan kulit yang bertujuan untuk menekan aktivitas IL-1 dan MMP-3 guna mengurangi kerutan kulit. Namun demikian, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme yang terlibat dalam regulasi IL-1 dan MMP-3 serta potensi intervensi yang lebih spesifik dan efektif untuk perlindungan kulit dan perawatan penuaan.



## BAB VI

### SIMPULAN DAN SARAN

#### 1.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh krim ekstrak kacang kedelai terhadap penurunan kadar Kadar IL-1 dan MMP-3 pada mencit betina BALB/c yang dipapar UVB, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ada pengaruh krim ekstrak kacang kedelai (*Glycine max*) terhadap penurunan kadar Kadar IL-1 dan MMP-3 pada mencit betina BALB/c yang dipapar UVB
2. Ada perbedaan kadar IL-1 pada kelompok P1 dan P2 yang diberikan krim ekstrak kacang kedelai dengan dosis 10% dan 20% dibandingkan dengan kelompok kontrol.
3. Ada perbedaan jumlah ekspresi MMP-3 pada kelompok P2 yang diberikan krim ekstrak kacang kedelai dengan dosis 20% dibandingkan dengan kelompok kontrol.

#### 1.2.Saran

Penelitian ini menemukan bahwa dosis EKK 20% lebih efektif dalam menurunkan IL-1 dan MMP-3 karena mendekati terapi standar, sehingga penelitian ini disarankan pada dosis 20%, meskipun dosis 10% mampu menurunkan IL-1 dan MMP-3 tapi tidak bias menyamai terapi standar. Penelitian ini tidak menganalisis zat aktif seperti genestein dan daidzein yang

terkandung dalam EKK, sehingga tidak diketahui zat yang berperan dalam penghambatan inflamasi, oleh karena itu disarankan untuk menguji profil isoflavone seperti genestein, daidzein, dan isoflavin dalam EKK untuk mengetahui zat yang berperan dalam menekan inflamasi.



## DAFTAR PUSTAKA

1. 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).
2. Cheng Y, Xia Q, Lu Z, Luan X, Fan L, Wang Z, et al. Maslinic acid attenuates UVB-induced oxidative damage in HFF-1 cells. *J Cosmet Dermatol.* 2023;
3. Österlund C, Hrapovic N, Lafon-Kolb V, Amini N, Smiljanic S, Visdal-Johnsen L. Protective Effects of Naringenin against UVB Irradiation and Air Pollution-Induced Skin Aging and Pigmentation. *Cosmetics.* 2023;
4. Kim IS. Current perspectives on the beneficial effects of soybean isoflavones and their metabolites for humans. *Antioxidants.* 2021.
5. Rather RA, Bhagat M, Singh SK. Oncogenic BRAF, endoplasmic reticulum stress, and autophagy: Crosstalk and therapeutic targets in cutaneous melanoma. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research.* 2020.
6. Green AC, Hughes MCB, McBride P, Fourtanier A. Factors associated with premature skin aging (photoaging) before the age of 55: A population-based study. *Dermatology.* 2011;
7. Poon F, Kang S, Chien AL. Mechanisms and treatments of photoaging. *Photodermatology Photoimmunology and Photomedicine.* 2015.
8. Sollena P, Vasiliki N, Kotteas E, Stratigos AJ, Fattore D, Orlandi A, et al. Cyclin-Dependent Kinase 4/6 Inhibitors and Dermatologic Adverse Events: Results from the EADV Task Force “Dermatology for Cancer Patients” International Study. *Cancers (Basel).* 2023;
9. Ganguly B, Hota M, Pradhan J. Skin Aging: Implications of UV Radiation, Reactive Oxygen Species and Natural Antioxidants. In 2022.
10. Hwang BM, Noh EM, Kim JS, Kim JM, Hwang JK, Kim HK, et al. Decursin inhibits UVB-induced MMP expression in human dermal fibroblasts via regulation of nuclear factor- $\kappa$ B. *Int J Mol Med.* 2013;
11. Kang KA, Zhang R, Piao MJ, Ko DO, Wang ZH, Lee K, et al. Inhibitory effects of triphloretol-A on MMP-1 induced by oxidative stress in human keratinocytes via ERK and AP-1 inhibition. *J Toxicol Environ Heal Part A.* 2008;71(15):992–9.
12. Zhang S, Duan E. Fighting against Skin Aging: The Way from Bench to Bedside. *Cell Transplantation.* 2018.
13. Li X, Cai L, Liu J, Ma Y, Kong Y, Li H, et al. Liquiritin suppresses

- UVB-induced skin injury through prevention of inflammation, oxidative stress and apoptosis through the TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B and MAPK/caspase signaling pathways. *Int J Mol Med*. 2018;
14. Patra S, Gorai S, Pal S, Ghosh K, Pradhan S, Chakrabarti S. A review on phytoestrogens: Current status and future direction. *Phytotherapy Research*. 2023.
  15. 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;
  16. 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*. 2022;
  17. Tanaka K, Ohgo Y, Katayanagi Y, Yasui K, Hiramoto S, Ikemoto H, et al. Anti-inflammatory effects of green soybean extract irradiated with visible light. *Sci Rep*. 2014;
  18. Park JYC, King A, Björk V, English BW, Fedintsev A, Ewald CY. Strategic outline of interventions targeting extracellular matrix for promoting healthy longevity. *American journal of physiology. Cell physiology*. 2023.
  19. Hasanov H, Mammadova K, Guliyeva F, Azizova U, Mikailova N. The Role of Matrix Metalloproteinases in Human Body. *Biol Med*. 2019;
  20. Nagase H. Matrix Metalloproteinase 3/Stromelysin 1. In: *Handbook of Proteolytic Enzymes*. 2013.
  21. Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, Rosa CCD La, Ramirez-Acuña JM, Perez-Romero BA, Guerrero-Rodriguez JF, et al. The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases. *Int J Mol Sci*. 2020;
  22. Pittayapruerk P, Meephansan J, Prapapan O, Komine M, Ohtsuki M. Role of matrix metalloproteinases in Photoaging and photocarcinogenesis. *Int J Mol Sci*. 2016;17(6).
  23. Gentile P, Garcovich S. Adipose-derived mesenchymal stem cells (AD-MSCs) against ultraviolet (UV) radiation effects and the skin photoaging. *Biomedicines*. 2021.
  24. Alge-Priglinger CS, Kreutzer T, Obholzer K, Wolf A, Mempel M, Kernt M, et al. Oxidative stress-mediated induction of MMP-1 and MMP-3 in human RPE cells. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2009;
  25. Li DQ, Meller D, Liu Y, Tseng SCG. Overexpression of MMP-1 and MMP-3 by cultured conjunctivochalasis fibroblasts. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2000;
  26. Quan T, Qin Z, Xia W, Shao Y, Voorhees JJ, Fisher GJ. Matrix-degrading

- metalloproteinases in photoaging. *J Investig Dermatology Symp Proc.* 2009;14(1):20–4.
27. Seo SA, Ngo HTT, Hwang E, Park B, Yi TH. Protective effects of Carica papaya leaf against skin photodamage by blocking production of matrix metalloproteinases and collagen degradation in UVB-irradiated normal human dermal fibroblasts. *South African J Bot.* 2020;
  28. Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunological Reviews.* 2018.
  29. Ameer MA, Chaudhry H, Mushtaq J, Khan OS, Babar M, Hashim T, et al. An Overview of Systemic Lupus Erythematosus (SLE) Pathogenesis, Classification, and Management. *Cureus.* 2022;
  30. Kulka M. Mechanisms and Treatment of Photoaging and Photodamage. In: *Using Old Solutions to New Problems - Natural Drug Discovery in the 21st Century.* 2013.
  31. Rauch I. Eicosanoid Isolation from Mouse Intestinal Tissue for ELISA. *BIO-PROTOCOL.* 2018;
  32. Sblattero D, Berti I, Trevisiol C, Marzari R, Tommasini A, Bradbury A, et al. Human recombinant tissue transglutaminase ELISA: An innovative diagnostic assay for celiac disease. *Am J Gastroenterol.* 2000;
  33. Mir MA, Mehraj U, Nisar S, Qayoom H. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). In: *Immunoglobulins, Magic Bullets and Therapeutic Antibodies.* 2020.
  34. Tsurusawa N, Chang J, Namba M, Makioka D, Yamura S, Iha K, et al. Modified ELISA for ultrasensitive diagnosis. *Journal of Clinical Medicine.* 2021.
  35. Iha K, Inada M, Kawada N, Nakaishi K, Watabe S, Tan YH, et al. Ultrasensitive ELISA developed for diagnosis. *Diagnostics.* 2019.
  36. Sudarić A. Introductory Chapter: Soybean - Quality and Utilization. In: *Soybean for Human Consumption and Animal Feed.* 2020.
  37. Krisnawati A, Muchlish Adie M. The leaflet shape variation from several soybean genotypes in Indonesia. *Biodiversitas.* 2017;
  38. Tripathi AK, Misra AK. Soybean - A consummate functional food: A review. *Journal of Food Science and Technology.* 2005.
  39. Hymowitz T, Newell CA. Taxonomy of the genus Glycine, domestication and uses of soybeans. *Econ Bot.* 1981;
  40. Caballero B, Finglas P, Toldrá F. *Encyclopedia of food and health.* Academic Press; 2015.
  41. Pang D, Yang C, Luo Q, Li C, Liu W, Li L, 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;
42. Singh BP, Yadav D, Vij S. Soybean Bioactive Molecules: Current Trend and Future Prospective. In: Reference Series in Phytochemistry. 2019.
  43. Li P, Liu Y, Gao M, Fu J, Guo Y. Dietary Soy Saponin Improves Antioxidant and Immune Function of Layer Hens. *J Poult Sci.* 2022;
  44. Intakes R. Vitamin E — Health Professional Fact Sheet Vitamin E Fact Sheet for Health Professionals. Nih. 2014.
  45. on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans IWG, Others. Solar and ultraviolet radiation. Radiation. 2012;
  46. Leaf A. Loss of stratospheric ozone and health effects of increased ultraviolet radiation. *Crit Cond Hum Heal Environ* Ed by Eric Chivian, Michael McCally, Howard Hu, Andrew Haines Cambridge, MA MIT Press Cited <http://www.ciesin.org/TG/HH/ozeye.html>. 1993;
  47. Kliniec K, Tota M, Zalesińska A, Łyko M, Jankowska-Konsur A. Skin Cancer Risk, Sun-Protection Knowledge and Behavior in Athletes—A Narrative Review. *Cancers.* 2023.
  48. D’Orazio J, Jarrett S, Amaro-Ortiz A, Scott T. UV radiation and the skin. *International Journal of Molecular Sciences.* 2013.
  49. Ron-Doitch S, Frušić-Zlotkin M, Soroka Y, Duanis-Assaf D, Amar D, Kohen R, et al. EDNA-mediated cutaneous protection against UVB damage conferred by staphylococcal epidermal colonization. *Microorganisms.* 2021;
  50. Boslaugh SE. Sunscreening Agents. In: *The SAGE Encyclopedia of Pharmacology and Society.* 2016.
  51. Tanveer MA, Rashid H, Tasduq SA. Molecular basis of skin photoaging and therapeutic interventions by plant-derived natural product ingredients: A comprehensive review. *Heliyon.* 2023.
  52. Ganceviciene R, Liakou AI, Theodoridis A, Makrantonaki E, Zouboulis CC. Skin anti-aging strategies. *Dermatoendocrinol.* 2012;4(3):308–19.
  53. Chung JH, Youn SH, Koh WS, Eun HC, Cho KH, Park KC, et al. Ultraviolet B Irradiation-Enhanced Interleukin (IL)-6 Production and mRNA Expression Are Mediated by IL-1 $\alpha$  in Cultured Human Keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 1996;
  54. Wang H. A review of the effects of collagen treatment in clinical studies. *Polymers.* 2021.
  55. Fisher GJ, Kang S, Varani J, Bata-Csorgo Z, Wan Y, Datta S, et al. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Arch Dermatol.* 2002;
  56. Xu H, Zheng YW, Liu Q, Liu LP, Luo FL, Zhou HC, et al. Reactive Oxygen Species in Skin Repair, Regeneration, Aging, and Inflammation.

In: Reactive Oxygen Species (ROS) in Living Cells. 2018.

57. Shin JW, Kwon SH, Choi JY, Na JI, Huh CH, Choi HR, et al. Molecular mechanisms of dermal aging and antiaging approaches. *Int J Mol Sci.* 2019;20(9):2126.
58. Wang Y, Wang L, Wen X, Hao D, Zhang N, He G, et al. NF- $\kappa$ B signaling in skin aging. *Mechanisms of Ageing and Development.* 2019.
59. Liu T, Li N, qi Yan Y, Liu Y, Xiong K, Liu Y, et al. Recent advances in the anti-aging effects of phytoestrogens on collagen, water content, and oxidative stress. *Phytotherapy Research.* 2020.
60. Yu J, Bi X, Yu B, Chen D. Isoflavones: Anti-inflammatory benefit and possible caveats. *Nutrients.* 2016.
61. 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;
62. 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.
63. 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.
64. Hinsberger M, Becker-Kettern J, Jürgens-Wemheuer WM, Oertel J, Schulz-Schaeffer WJ. Development of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for the Quantification of ARID1A in Tissue Lysates. *Cancers (Basel).* 2023;
65. Erlangga Widya Putri. PENGARUH PEMBERIAN FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK KEDELAI TERHADAP EKSPRESI MMP-1 , RATIO KOLAGEN TIPE I DAN III SERTA JUMLAH MELANIN PADA MENCIT YANG DIPAPAR UV-B (Studi Eksperimental Pada Mencit Betina). Universitas Islam Sultan Agung; 2019.