

**PENGARUH GEL EKSTRAK KULIT PETAI (*Parkia speciosa* Hassks.)
TERHADAP KADAR *MALONDIALDEHYDE* DAN *INTERLEUKIN-10*
(Studi eksperimental *in vivo* pada tikus model *photoaging* yang dipapar UV-B)**

TESIS

untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat

Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Rissa Ismawati

MBK.2118010268

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

2024

HALAMAN PENGESAHAN

TESIS

**PENGARUH GEL EKSTRAK KULIT PETAI (*Parkia speciosa*)
TERHADAP KADAR *MALONDIALDEHYDE* DAN *INTERLEUKIN-10*
(Studi eksperimental *in vivo* pada tikus model *photoaging* yang dipapar UV-B)**

Disusun oleh :


Rissa Ismawati

MBK.2118010268


Telah disetujui oleh :

Pembimbing I,

Pembimbing II,


Dr. dr. Pasid Harlisa, Sp.KK

NIK. 210104084


Dr. dr. Chodidjah, M.Kes.

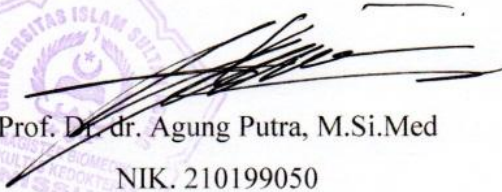
NIK. 210186023

UNISSULA

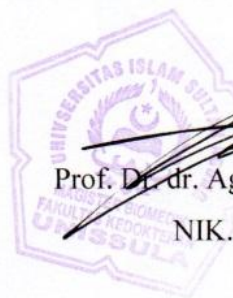
جامعة سلطان ابي بكر
Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung


Prof. Dr. dr. 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, Desember 2023
Yang menyatakan,



ABSTRAK

Latar belakang: Paparan Sinar UVB dapat menginduksi sintesis melanin dengan meningkatkan kadar MDA dan menekan ekspresi *interleukin-10* (IL-10). Senyawa metabolit dalam ekstrak kulit petai dapat menghambat stress oksidatif akibat paparan sinar UVB. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian gel ekstrak kulit petai terhadap kadar MDA dan IL-10 pada jaringan kulit tikus yang terpapar UVB intensitas tinggi.

Metode: Desain penelitian ini *posttest only control grup* dengan metode rancang acak lengkap. Sampel yang diteliti 24 ekor tikus dengan paparan sinar UVB 302nm dan energi 390mj/cm²/hari sebanyak 3 kali seminggu selama 2 minggu. Penelitian ini dilakukan empat kelompok yaitu kelompok sehat (K1), kelompok kontrol negatif (K2), perlakuan 1 (K3) dengan gel ekstrak kulit petai 10% dan perlakuan 2 (K4) dengan gel ekstrak kulit petai 20%. Kadar MDA dan IL-10 di analisa menggunakan *ELISA assay*.

Hasil: Analisis ELISA menunjukkan bahwa terdapat penurunan rerata kadar MDA yang signifikan antara K4 (0,61±0,15) dan K3 (0,71±0,11) dibandingkan kontrol negatif (1,65±0,30) dengan nilai $p < 0.05$. Analisis kadar IL-10 juga menunjukkan bahwa terdapat peningkatan rerata kadar IL-10 yang signifikan pada K3 (189,00±11,41) dan K4 (252,49±4,37) dibandingkan kontrol negatif (96,42±6,16) dengan nilai $p < 0.05$.

Kesimpulan: Pemberian gel ekstrak kulit petai dapat menekan kadar MDA dan meningkatkan kadar IL-10 pada tikus model photoaging yang dipapar sinar UVB.

Kata kunci : Paparan UVB, ekstrak kulit petai, MDA, IL-10

ABSTRACT

Background: Exposure to UVB rays can induce melanin synthesis by increasing MDA levels and suppressing the expression of interleukin-10 (IL-10). The metabolite compounds in petai peel extract can inhibit oxidative stress due to exposure to UVB rays. This study aims to determine the effect of administering petai peel extract gel on MDA and IL-10 levels in rat skin tissue exposed to high-intensity UVB.

Method: The research design was posttest only control group with a completely randomized design method. The samples studied were 24 mice with exposure to 302nm UVB light and 390 mJ/cm²/day of energy 3 times a week for 2 weeks. This research was carried out in four groups, namely the healthy group (K1), the negative control group (K2), treatment 1 (K3) with 10% petai peel extract gel and treatment 2 (K4) with 20% petai peel extract gel. MDA and IL-10 levels were analyzed using ELISA assay.

Results: ELISA analysis showed that there was a significant decrease in mean MDA levels between K4 (0,61±0,15) and K3 (0,71±0,11) compared to the negative control (1,65±0,30) with a p value <0.05. Analysis of IL-10 levels also showed that there was a significant increase in mean IL-10 levels in K3 (189,00±11,41) and K4 (252,49±4,37) compared to the negative control (96,42±6,16) with a p value <0.05.

Conclusion: Administration of petai peel extract gel can suppress MDA levels and increase IL-10 levels in photoaging mice exposed to UVB light.

Key words: UVB exposure, petai peel extract, MDA, IL-10

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 GEL EKSTRAK KULIT PETAI TERHADAP KADAR MDA DAN IL-10 (Studi Eksperimental in Vivo Pada Tikus Wistar Model Photoaging yang Terpapar 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. Dr. dr. Pasid Harlisa, Sp.KK selaku pembimbing I dalam penelitian yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan thesis.
5. Dr. dr. Chodidjah, M.Kes. selaku pembimbing II dalam penelitian yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan thesis.
6. Prof. Dr. Ir. Titiek Sumarwati, M.Kes selaku dosen penguji yang banyak memberikan masukan dan arahan kepada penulis.
7. Prof. Dr. dr. H. Agung Putra, M.Si. Med selaku dosen penguji yang banyak memberikan masukan dan arahan kepada penulis.
8. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp. KK(K) selaku dosen penguji yang banyak memberikan masukan dan arahan kepada penulis.
9. Segenap Staf Laboratorium SCCR Semarang, Mas Ariq, Mas Ifan, Mba Dina, Mas Ardi, Mas Husein, Mba Santi yang telah banyak membantu penulis dalam proses menyelesaikan tugas akhir.
10. Orang tua , Suami dan anak-anak tercinta, serta Keluarga dan pasien-pasien loyal yang selalu mendukung dan mendoakan penulis selama melaksanakan Pendidikan magister biomedik.
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.

Semarang, Desember 2023
Penulis,

(Rissa Ismawati)



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum.....	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat penelitian.....	4
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2. Manfaat Praktis.....	5
1.5. Originalitas Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1. Interleukin 10 (IL-10).....	8
2.1.1. Definisi	8
2.1.2. Peran IL-10 pada photoaging akibat UVB	8
2.2. Malondyaldehyde (MDA)	9
2.2.1. Definisi	9
2.2.2. Aktivitas Molekuler MDA dan Photoaging	10
2.3. Ekstrak Kulit Petai.....	12

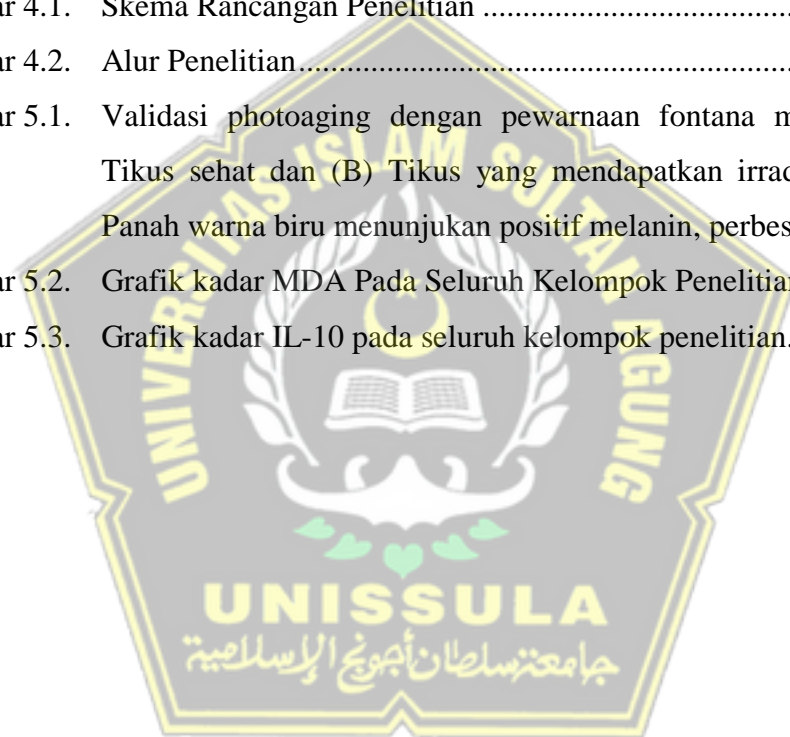
2.3.1.	Definisi Ekstrak Kulit Petai.....	12
2.3.2.	Jenis-jenis Petai	13
2.3.3.	Mekanisme Ekstrak Kulit Petai Mencegah Melanogenesis	14
2.4.	Ultraviolet B	15
2.4.1.	Photoaging.....	16
2.5.	Mekanisme Senyawa Antioksidan sebagai Antiaging.....	18
2.6.	Sediaan Topikal	19
2.7.	Pengaruh Gel Ekstrak Kulit Petai terhadap Kadar MDA dan IL-10 pada Tikus yang Dipapar UVB	24
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS		26
3.1.	Kerangka Teori.....	26
3.2.	Kerangka Konsep	29
3.3.	Hipotesis	29
BAB IV METODE PENELITIAN		30
4.1.	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	30
4.2.	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	31
4.2.1.	Variabel Penelitian	31
4.2.2.	Defenisi Operasional	32
4.3.	Subjek Penelitian dan Sampel Penelitian	33
4.3.1.	Subjek Penelitian.....	33
4.3.2.	Sampel Penelitian.....	33
4.3.3.	Kriteria Inklusi dan Eksklusi	33
4.3.4.	Cara Penentuan Sampel Penelitian.....	34
4.3.5.	Besar Sampel.....	34
4.4.	Alat dan Bahan	35
4.4.1.	Alat	35
4.4.2.	Bahan.....	35
4.5.	Cara Penelitian.....	36
4.5.1.	Perolehan <i>Ethical Clearance</i>	36
4.5.2.	Cara Pembuatan Ekstrak Kulit Petai	36
4.5.3.	Pembuatan Gel Ekstrak Kulit Petai	36

4.5.4.	Penetapan Dosis	37
4.5.5.	Penyinaran UVB dan Pemberian Perlakuan pada Subjek Percobaan	37
4.5.6.	Pengambilan Sampel Jaringan.....	38
4.5.7.	Pembuatan Blok Parafin.....	38
4.5.8.	Validasi Photoaging Setelah Induksi UVB Menggunakan Pengecatan Masson Fontana untuk Deteksi Melanin.....	39
4.5.9.	Analisis Kadar MDA dan IL-10 menggunakan ELISA	40
4.6.	Tempat dan Waktu Penelitian.....	40
4.7.	Analisa Data	40
4.8.	Alur Penelitian.....	42
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....		43
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN		54
DAFTAR PUSTAKA.....		55



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Pohon Petai, Buah dan Biji.....	13
Gambar 2.2.	Diagram Skematis Mekanisme Stress Oksidatif yang Diinduksi Sinar UVB dan Sistem Perthanan atau Detoksifikasi Antioksidan di Kulit	18
Gambar 3.1.	Kerangka Teori.....	27
Gambar 3.2.	Kerangka Konsep	28
Gambar 4.1.	Skema Rancangan Penelitian	29
Gambar 4.2.	Alur Penelitian.....	41
Gambar 5.1.	Validasi photoaging dengan pewarnaan fontana masson (A) Tikus sehat dan (B) Tikus yang mendapatkan irradiasi UVB. Panah warna biru menunjukkan positif melanin, perbesaran 100x..	44
Gambar 5.2.	Grafik kadar MDA Pada Seluruh Kelompok Penelitian	46
Gambar 5.3.	Grafik kadar IL-10 pada seluruh kelompok penelitian.....	48



DAFTAR TABEL

Tabel 1.1.	Originalitas Penelitian.....	5
Tabel 2.1.	Perbandingan Perubahan Histologis dan Klinis pada Penuaan	16
Tabel 4.1.	Definis Operasional	31



DAFTAR SINGKATAN

ACTH	: <i>Adrenocorticotropic Hormone</i>
AP-1	: <i>Activator Protein-1</i>
APC	: <i>Antigen-presenting Cell</i>
bFGF	: <i>Basic Fibroblast Growth Factor</i>
bHLH-LZ	: <i>Basic Helix-loop-helix-leucine Zipper</i>
cAMP	: <i>Cyclic Adenosine Monophosphate</i>
CREB	: <i>cAMP Response Element-binding Protein</i>
ERK	: <i>Extracellular Signal-regulated Kinase</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
GPx	: <i>Glutathione peroxidase</i>
HE	: <i>Hematoksin-Eosin</i>
HGF	: <i>Hepatocyte Growth Factor</i>
HIF	: <i>Hipoxic Induce Factor</i>
HPMC	: <i>Hydroxypropyl Methylcellulose</i>
JAK2-STAT6	: <i>Janus Kinase 2 – Signal Transduction and Transcription 6</i>
IGF-1	: <i>Insulin-like Growth Factor 1</i>
IFN- γ	: <i>Interferon-gamma</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IRF1	: <i>Interferon Regulatory Factor 1</i>
KGF	: <i>Keratinocyte Growth Factor</i>
L-DOPA	: <i>L-3, 4-dihydroxyphenylalanine v</i>
MAPK	: <i>Mitogen-actived Protein Kinases v</i>
MC1R	: <i>Melanocortin 1 Receptor</i>
MDA	: <i>Malondyaldehyde</i>
MED	: <i>Minimal Erythema Dose</i>
MMP	: <i>Matriks Metalloproteinase</i>
MRP	: <i>Melanogenesis-related Protein</i>

NF- κ B	: <i>Nuclear Factor Kappa-B</i>
p53	: <i>Tumor Protein p53</i>
PAMP	: <i>Pathogen-associated Molecular Pattern</i>
PKC	: <i>Protein Kinase C</i>
POMC	: <i>Promotor Proopiomelanokortin</i>
RER	: <i>Rough Endoplasmic Reticulum</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species v</i>
RT-PCR	: <i>Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction</i>
STAT1	: <i>Signal Transduction and Transcription 1</i>
TEA	: <i>Triethanolamine</i>
TLRs	: <i>Toll-like Receptors</i>
TRP-1	: <i>Tyrosinase-related Protein-1 v</i>
TRP-2	: <i>Tyrosinase-related Protein-2</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor beta</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor-alpha</i>
Smad2	: <i>Small Mothers Against Decapentaplegic 2</i>
UVB	: <i>Ultra Violet B</i>



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang terletak di garis khatulistiwa sehingga memiliki irradiasi UVB lebih lama dan indeks UV lebih tinggi¹. Studi paparan sinar matahari di Asia Tenggara menemukan bahwa di Jakarta, intensitas UVB tertinggi sekitar ~2 MED/jam². Prevalensi *photoaging* akibat paparan UVB di Indonesia pada tahun 2022 dilaporkan masih tinggi, terutama pada usia kelompok usia 20-30 tahun³. Paparan sinar UVB yang berlebihan menjadi salah satu faktor yang dapat menyebabkan *photoaging*. Radiasi UVB dapat menyebabkan kerusakan kulit, termasuk sengatan matahari, respon pigmentasi, eritema, sensitivitas, dan kanker kulit⁴. Pengobatan standar *photoaging* berfokus pada perlindungan fisik dan kimia terhadap paparan UVB tanpa mempengaruhi jalur produksi melanin.⁵

Radiasi ultraviolet B (UVB) dapat menembus kulit hingga lapisan atas dermis, menyebabkan kerusakan DNA sel kulit melalui akumulasi *Reactive Oxygen Species* (ROS)⁶. Akumulasi ROS dapat meningkatkan stres oksidatif melalui peroksidasi lipid di dalam sel yang berujung pada akumulasi *malondialdehyde* (MDA)^{7,8}. Kadar MDA berlebih dapat memicu peningkatan respon inflamasi akibat upregulasi sitokin proinflamasi *interleukin 1 β* (IL-1 β) dan downregulasi sitokin antiinflamasi *interleukin-10* (IL-10)^{9,10}. Akumulasi MDA dan penurunan sitokin antiinflamasi

menyebabkan aktivasi berbagai jalur produksi melanin dan degradasi kolagen, sehingga menyebabkan photoaging. Hingga saat ini terapi yang umumnya digunakan untuk mengatasi photoaging akibat paparan sinar UVB dengan menggunakan senyawa kimia seperti asam retinoid dan hydroquinone yang dalam penggunaan jangka panjang dapat menyebabkan iritasi kulit, kekeringan, dan kemerahan hingga kanker kulit¹¹. Oleh karena itu diperlukan alternatif terapi yang lebih efektif dan aman.

Ekstrak kulit petai (*Parkia speciosa*) mengandung berbagai metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid, alkaloid, dan terpenoid yang memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi^{12,13}. Penelitian terdahulu melaporkan ekstrak kulit petai (*Parkia speciosa*) menghambat produksi MDA dan meningkatkan produksi IL-10 pada model inflamasi yang diinduksi dengan *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) di human umbilical vein endothelial cells (HUVECs)¹⁴. Namun pengaruh pemberian ekstrak kulit petai dalam menghambat MDA dan meningkatkan IL-10 pada tikus model *photoaging* yang diirradiasi UVB belum pernah dilakukan.

Petai (*Parkia speciosa* Hassks.) diketahui memiliki kandungan antioksidan tinggi yang mampu menekan stress oksidatif^{15,16}. Penelitian terdahulu melaporkan kapasitas antioksidan pada ekstrak *Parkia speciosa* dapat menekan stres oksidatif akibat sinar UVB pada sel kulit manusia, hal ini menunjukkan potensinya dalam pencegahan kerusakan kulit¹⁶. Penelitian terdahulu juga melaporkan bahwa ekstrak etanol kulit petai mampu meningkatkan berbagai enzim antioksidan seperti *superoxide dismutase*

(SOD), *glutathione peroxidase* (GSH-Px), *catalase*, dan menurunkan kadar MDA pada liver tikus model diabetes¹⁷. Kadar MDA meningkat secara signifikan pada human fibroblast mulai 24 jam setelah mendapatkan irradiasi UVB⁸. Ekstrak etanol kulit petai dosis 10% dapat menekan produksi melanin pada kulit tikus model yang diiradiasi UVB.¹⁸ Ekstrak kulit petai (*Parkia speciosa*) mengandung flavonoid yang memiliki aktivitas antiinflamasi dan antioksidan dengan menekan kadar ROS^{16,19}. Namun demikian belum ada penelitian yang mengkaji pengaruh ekstrak kulit petai terhadap kadar MDA dan kadar IL-10 pada kulit *photoaging* akibat paparan sinar UVB. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa pemberian ekstrak *Clitorea ternatea* mengandung flavonoid dan polifenol secara topikal dapat mencegah stress oksidatif sehingga berpotensi untuk mencegah *photoaging* akibat UVB²⁰. Pengaruh pemberian ekstrak kulit petai terhadap kadar MDA dan kadar IL-10 pada kulit tikus *photoaging* yang terinduksi sinar UVB. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian gel ekstrak kulit petai terhadap kadar MDA dan kadar IL-10 pada kulit tikus *photoaging* yang dipapar sinar UVB

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah tersebut di atas, maka rumusan masalah yang dikemukakan dalam penelitian ini adalah: Apakah terdapat pengaruh gel ekstrak kulit petai terhadap kadar MDA dan IL-10 pada tikus model *photoaging* yang terpapar UV-B?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh gel ekstrak kulit petai terhadap kadar MDA dan kadar IL-10 pada tikus wistar yang terpapar UV-B.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Membuktikan pengaruh gel ekstrak kulit petai dosis 10% dan 20% terhadap kadar MDA pada tikus wistar yang terpapar UV-B dibandingkan kontrol.
2. Membuktikan pengaruh gel ekstrak kulit petai dosis 10% dan 20% terhadap kadar IL-10 pada tikus wistar yang terpapar UV-B dibandingkan kontrol.

1.4. Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Secara teoritis manfaat yang diberikan dari penelitian ini adalah menyajikan ilmu pengetahuan kepada masyarakat terkait peran gel ekstrak kulit petai terhadap kadar MDA dan IL-10 pada tikus wistar yang terpapar UV-B.

1.4.2 Manfaat Praktis

Secara praktis manfaat dari penelitian ini yaitu dapat menjadi data dasar bagi penelitian terapan lanjutan yang bermuara pada produksi produk dari ekstrak petai untuk terapi *photoaging* akibat paparan UVB.

1.5. Originalitas Penelitian

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian

Peneliti	Judul	Metode	Hasil
Gui JS, Jalil J, Jubri Z, Kamisah Y ²¹	Parkia speciosa empty pod extract exerts anti-inflammatory properties by modulating NFκB and MAPK pathways in cardiomyocytes exposed to tumor necrosis factor-α	<i>In vitro</i>	Ekstrak kulit petai menurunkan level inflamasi, seperti penurunan ekspresi TNFα, p65, iNOS, dan COX2.
Iqbal IY ²²	Pemberian krim ekstrak etanol biji petai (parkia speciosa) 20% sama efektif dengan krim Hidrokuinon 4% dalam menghambat Pembentukan jumlah melanin pada kulit Marmut (cavia porcellus) yang dipapar sinar Ultraviolet B	<i>In vivo</i>	Ekstrak kulit petai menghambat peningkatan persentase melanin
Ningsih SW, Utami TR, Stevana	Kandungan Senyawa Ekstrak Kulit Petai dengan	<i>In vitro</i>	Ekstrak kulit petai mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tannin,

A, Wijayanti A ²³ .	pelarut etanol 70% dan Etil Asetat		saponin dan steroid.
Jabbar, A. A., Abdullah, F. O., Abdoulrah man, K., Galali, Y., Ibrahim, I. A. A., Alzahrani, A. R., & Hassan, R. R ²⁴ .	<i>In vivo Antioxidant and Antiuler of Parkia Speciosa Ethanollic Leaf Extract against Ethanol Induced Gastric Ulcer in Rats</i>	<i>In vivo</i>	Ekstrak kulit petai meningkatkan HSP-70 dan menurunkan protein proapoptosis bax, meningkatkan enzim antioksidan GSH dan SOD serta menurunkan MDA.
Izzah Ahmad, N., Abdul Rahman, S., Leong, Y.- H., & Azizul, N. H ²⁵	<i>Parkia speciosa empty pod prevents hypertension and cardiac damage in rats given N(G)- nitro-l-arginine Methyl Ester</i>	<i>In vivo</i>	Ekstrak methanol kulit petai menghambat kemungkinan hipertensi melalui penurunan <i>nitric oxide, angiotensin- converting enzyme</i> dan ROS.

Berdasarkan Tabel 1 terdiri dari beberapa penelitian terdahulu mengenai khasiat ekstrak kulit petai. Gui²¹ melaporkan bahwa Ekstrak kulit petai menurunkan level inflamasi, seperti penurunan ekspresi TNF α , p65, iNOS, dan COX. Iqbal²² melaporkan bahwa Ekstrak kulit petai menghambat peningkatan persentase melanin pada kulit tikus photoaging. Ningsih²³ melaporkan bahwa ekstrak kulit petai mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid. Jabar²⁴ melaporkan bahwa ekstrak kulit petai meningkatkan HSP-70 dan menurunkan protein proapoptosis bax, meningkatkan enzim antioksidan GSH dan SOD serta menurunkan MDA. Studi pada tahun 2019 melaporkan bahwa ekstrak methanol kulit petai

menghambat kemungkinan hipertensi melalui penurunan nitric oxide, angiotensin-converting enzyme dan ROS. Penelitian tersebut berbeda dengan penelitian ini. Penelitian ini untuk mengetahui pengaruh gel ekstrak kulit petai terhadap kadar MDA dan IL-10 pada tikus wistar yang terpapar UV-B²⁵.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Interleukin 10 (IL-10)

2.2.1. Definisi

Interleukin-10 (IL-10) adalah pleomorfik yang terlibat sebagai antiinflamasi selama terjadinya infeksi²⁶. IL-10 diproduksi hampir semua sel imun seperti sel B, sel mast, granulosit (neutrophil, basophil, eosinophil), makrofag, sel dendritik, dan beberapa sub sel set T. IL-10 berperan sebagai agen pengatur *post transcriptional* di tingkat seluler untuk menekan messenger RNA (mRNA) untuk menstabilkan protein HuR (Human antigen R). IL-10 dapat menghambat jalur persinyalan apoptosis melalui jalur p38 Mitogen Activated of transcription (MAPK), melalui Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (STAT3), sehingga menghambat kematian jaringan dan disfungsi organ setelah cedera²⁷.

2.2.2. Peran IL-10 pada *photoaging* akibat UVB

IL-10 adalah sitokin anti-inflamasi yang diproduksi oleh sel T-reg. IL-10 berperan dalam mengatur sistem kekebalan yang meminimalkan kerusakan sel selama peradangan. Peradangan dan imunosupresi kulit akibat radiasi UVB dapat ditekan dengan peningkatan ekspresi dan sekresi IL-10 pada kulit²⁸. Molekul inflamasi yang terkait dengan *photoaging* yang dimediasi oleh radiasi UVB menunjukkan bahwa keratinosit yang rusak akibat sinar UVB mengeluarkan RNA nonkode yang dapat mengaktifkan

TLR3 dan menginduksi respons inflamasi seperti TNF- α dan IL-6, serta menekan IL-10 yang dapat menyebabkan *photoaging*²⁹. IL-10 juga berperan dalam pencegahan *photoaging* akibat penyinaran UVB dengan menekan ekspresi IL-6 yang diinduksi radiasi UVB pada kulit tikus. Penelitian lain melaporkan peningkatan ekspresi IL-10 pada keratinosit manusia dapat mencegah *photoaging*.

2.2. Malondyaldehide (MDA)

2.2.1. Definisi

Malondyaldehide (MDA) adalah senyawa organik dengan rumus nominal $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$. Ini adalah senyawa yang sangat reaktif yang terjadi secara alami dan merupakan penanda stres oksidatif. MDA sebagian besar ada dalam bentuk enol, dan dalam pelarut organik, isomer *cis* lebih disukai, sedangkan dalam air, isomer *trans* lebih dominan. MDA dihasilkan dari peroksidasi lipid asam lemak poliunsaturasi dan merupakan produk utama dalam sintesis tromboksan A_2 ^{30,31}. Paparan UVB diketahui dapat menyebabkan peroksidasi lipid pada membran sel kulit, yang mengakibatkan pembentukan ROS³². ROS dapat menyerang lipid pada sel-sel dengan menimbulkan proses peroksidasi lipid. Proses peroksidasi lipid merupakan reaksi berantai di mana radikal bebas yang terbentuk akan bereaksi dengan lipid membran sel, menghasilkan radikal bebas lainnya^{33,34}. Oleh karena itu, paparan UVB dapat

memicu terbentuknya ROS melalui peroksidasi lipid, yang pada gilirannya dapat menyebabkan kerusakan sel dan berkontribusi pada penuaan dan pigmentasi kulit.

MDA digunakan sebagai biomarker stres oksidatif dalam banyak masalah kesehatan seperti photoaging kanker, dan penyakit paru obstruktif kronis^{35,36}. MDA diproduksi oleh lipid membran sebagai respons terhadap ROS dan dapat digunakan sebagai indikator untuk mengevaluasi tingkat kerusakan membran plasma sel. MDA adalah salah satu produk akhir peroksidasi asam lemak poliunsaturasi dalam sel dan dapat menyebabkan kerusakan dan lisis protein pada sistem membran sel dan menyebabkan kematian sel kulit dalam kasus yang parah.

2.2.2. Aktivasi dan Mekanisme Seluler MDA dalam *Photoaging*

Peningkatan kadar MDA telah dilaporkan oleh berbagai penelitian pada *photoaging* kulit. MDA adalah dialdehid tiga karbon yang sangat reaktif yang dihasilkan sebagai produk samping dari peroksidasi asam lemak poliunsaturasi dan asam arakidonik. MDA merupakan penanda stres oksidatif dan dapat bereaksi dengan deoksiasenosin dan deoksiganosin dalam DNA yang dapat menyebabkan mutasi³⁷.

Penelitian lain melaporkan bahwa melanogenesis, adalah proses yang kompleks yang melibatkan regulasi positif gen tirosinase, induksi transkripsi gen tirozinase, dan aktivasi tirozin,

termasuk glikosilasi. Jalur Wnt/ β -katenin sangat aktif dan menginduksi sintesis melanin dalam *photoaging*³⁸. Selain itu, melanosit merasakan cahaya biru dan mengatur pigmen melalui opsin-3, menyediakan target potensial untuk mencegah jenis *photoaging*. Jalur Wnt/ β -katenin harus diblokir pada beberapa tingkat secara bersamaan, termasuk pengurangan aktivasi melanosit, inhibisi sintesis melanin, pengurangan transfer melanin, dan pengelupasan keratinosit yang mengandung melanosom. Stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan DNA dan produksi sitokin proinflamasi, yang dapat berkontribusi pada perkembangan *photoaging*³⁹. Stres oksidatif tersebut yang memicu aktivasi jalur dan ekspresi MDA dalam kulit.

2.3. Ekstrak Kulit Petai Petai

2.3.1. Definisi Ekstrak Kulit Petai

Parkia speciosa Hassk atau stean bean, adalah tanaman yang banyak ditemukan di daerah tropis seperti Malaysia, Indonesia, Thailand, dan Filipina²⁵. Tanaman tersebut termasuk genus *Parkia* dan spesies *speciosa* dalam famili Fabaceae (hidup di daerah tropis)²⁵. Leguminosae dan Mimosaceae), dikenal sebagai petai di Malaysia, Singapura, dan Indonesia, sator atau sataw di Thailand, Jepang di Filipina, dan yongchak di India¹⁷. Tumbuhan ini tumbuh setinggi 40 meter, dengan buah berbentuk seperti kacang hijau

panjang. Lebarinya 2 sampai 6 cm dan panjangnya 30 sampai 45 cm^{17,25}.

Biji petai dibungkus kulit berwarna hijau yang memiliki bau aneh dan bisa dimakan mentah sebagai "ulam" bahasa Malaysia untuk makanan yang tidak dimasak)¹⁷. Biji petai adalah "ulam" paling banyak dikonsumsi di Malaysia. Biji setengah matang juga bisa dibuat asinan dengan air garam. Tumbuhan ini juga telah digunakan oleh penduduk setempat untuk mengobati berbagai penyakit dan gejala seperti diabetes, gangguan ginjal, dan sakit kepala²⁵. Petai secara taksonomi diklasifikasikan sebagai berikut⁴²:

Kerajaan : Plantae

Divisi : Tracheophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Capparales

Suku : Fabales

Marga : *Parkia*

Spesies : *Parkia speciosa* Hassk.



(A)



(B)



(C)

Gambar 2.1. Pohon (A), buah (B) dan Biji Petai (C)

2.3.2. Jenis-Jenis Petai

Di Indonesia ada dua marga polong-polongan yang dimanfaatkan bijinya untuk makanan manusia. Kedua marga tersebut adalah *Parkia* dan *Pithecellebiium*. Dari tiga Jenis petai yang dilaporkan tumbuh di Jawa, *Parkia speciosa* merupakan petai yang umum diperjualbelikan, petai menyilang secara alami dengan kedawung (*Parkia roxburghii* dan bastar alaminya adalah *Parkia intermedia*)⁴³.

Dari segi morfologi, petai dan kedawung mudah dibedakan, baik dari segi perawakan pohon maupun sifat-sifat polongnya. Dengan demikian adanya bastar antara kedua jenis yang berbeda sifatnya ini akan dapat dikenali dengan mudah pula⁴³. Meskipun petai sudah lama dibudidayakan dan dimanfaatkan, keanekaragaman yang ada pada petai ini belum diungkapkan. Terdapat dua macam *Parkia intermedia* menyerupai petai sifat-sifatnya, tetapi secara jelas tidak disinggung sifat-sifat yang berbeda pada contoh-contoh petai sendiri^{39,44}.

2.3.3. Kandungan Senyawa Kimia Petai

Berdasarkan hasil uji kuantitatif dan kualitatif kandungan senyawa kimia petai dapat diketahui bahwa terdapat beberapa senyawa kimia penting yang bekerja secara sinergis. Pengujian bahan dilakukan dalam bentuk ekstrak petai dan terbukti

mengandung senyawa kimia tanin, flavonoid, fenol, yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan⁴⁵.

2.3.4. Mekanisme Ekstrak Kulit Petai Mencegah Melanogenesis

Ekstrak kulit petai (*Parkia speciosa*) telah terbukti menghambat melanogenesis melalui penurunan regulasi aktivitas tirosinase, yang merupakan mekanisme penghambatan melanogenesis yang paling banyak dilaporkan.⁴⁶ Penurunan regulasi ekspresi tirosinase akibat ekstrak kulit petai (*Parkia speciosa*) sehingga mengurangi produksi melanin melalui penghambatan jalur pensinyalan cAMP/PKA, yang terlibat dalam regulasi ekspresi tirosinase.¹⁶ Ekstrak kulit petai (*Parkia speciosa*) telah terbukti memiliki efek antioksidan yang dapat berkontribusi terhadap efek penghambatan melanogenesis.⁴⁷ Penelitian terdahulu menemukan bahwa ekstrak kulit petai (*Parkia speciosa*) meningkatkan aktivitas enzim antioksidan, seperti superoksida dismutase (SOD) dan katalase (CAT), yang melindungi terhadap stres oksidatif dan kerusakan.⁴⁵ Hal ini menunjukkan bahwa *Parkia speciosa* dapat menghambat melanogenesis dengan mengurangi stres oksidatif dan kerusakan melanosit.

2.4 Ultraviolet B (UV B)

Radiasi ultraviolet (UV) sinar matahari dibagi menjadi UVA (315–400 nm), UVB (280–315 nm) dan UVC (200–280 nm). Sekitar 90% Sinar UV yang mencapai bumi merupakan UVA, 10% merupakan UVB, sedangkan UVC seluruhnya diserap oleh atmosfer bumi. Berdasarkan kedua UV yang mampu menembus permukaan bumi, UVB merupakan UV yang dapat menembus epidermis dan mencapai bagian atas dermis dan dapat menginduksi kerusakan DNA sel-sel kulit dengan meningkatkan konsentrasi *Reactive Oxygen Species* (ROS)^{7,48}. Paparan jangka panjang terhadap UVB dapat menyebabkan photoaging yang memfasilitasi penuaan kulit dan melanogenesis⁴⁹.

2.4.1. Photoaging

Photoaging merupakan penuaan kulit ekstrinsik yang menyebabkan penuaan dini pada kulit melalui paparan kumulatif radiasi ultraviolet (UV) dari Matahari maupun sumber UV buatan⁵⁰. Photoaging secara klinis ditandai dengan warna kulit yang tidak merata (photoaging), rona kulit yang memucat kekuningan, kerutan (bisa halus, kasar atau keduanya), kulit yang atrofi, kulit menjadi kendur, telangiectasis, solar elastosis, actinic purpura, hingga pembentukan lesi prakanker, kanker kulit, dan melanoma⁶.

Tabel 2.1. perbandingan perubahan histologis dan klinis yang terbukti pada penuaan kronologis dan Photoaging⁵¹

	Chronological aging	Photoaging
Histological features	Loose, short, thin, disorganized collagen Epidermal atrophy Loss of rete pegs Flattening of epidermal-dermal junction Reduced melanocytes, Langerhans, and mast cells	Elastosis Collagen fragmentation Irregular epidermal thickness Increased glycosaminoglycans and proteoglycans Increased inflammatory markers (mast cells, eosinophils, mononuclear cells) Melanogenesis
Clinical features	Thin skin Fine wrinkles Xerosis Laxity Cherry angioma Seborrheic keratoses	Atrophic skin Coarse wrinkles Leathery skin Lentigines Bronzed appearance Yellow cobblestone appearance Telangiectasia Bruising Sun-induced dermatitis

Sinar UV yang mencapai lapisan dermis lebih banyak pada kulit yang berwarna cerah dibandingkan dengan kulit berwarna gelap sehingga individu dengan tipe kulit Fitzpatrick rendah cenderung lebih rentan terhadap *photoaging*⁴⁸. Terdapat enam tipe warna kulit yang diklasifikasikan Fitzpatrick berdasarkan reaksinya terhadap

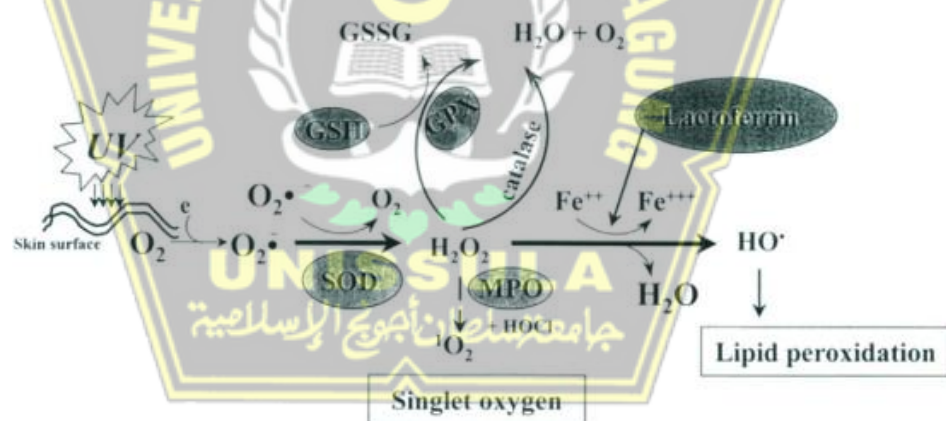
paparan sinar matahari serta radiasi sinar UV, mulai dari sangat pucat (tipe kulit I) hingga sangat gelap (tipe kulit VI). Warna alami atau pigmentasi kulit ditentukan oleh jumlah, tipe dan susunan melanin di kulit. Pigmen melanin memberikan perlindungan alami terhadap paparan sinar UV yakni *Sun Protection Factor (SPF)*⁵². Kulit yang gelap lebih tahan terhadap kerusakan kulit akibat paparan sinar UV dikarenakan kulit yang lebih gelap memiliki SPF alami yang lebih tinggi yakni 13,4 jika dibandingkan kulit bangsa Kaukasia yang hanya memiliki SPF alami 3-4 atau bahkan kurang, sehingga manifestasi penuaan kulit lebih ringan dan terjadi lebih lambat 10 hingga 20 tahun dibandingkan dengan kulit yang lebih terang⁵³.

2.5. Mekanisme Senyawa Antioksidan sebagai Antiaging

Enzim antioksidan mengkatalisis konversi H_2O_2 yang diinduksi UV menjadi air dan oksigen menggunakan GSH sebagai kofaktor. Salah satu mekanisme antioksidan dengan menangkap radikal bebas dan ROS.⁵⁴ Tingginya kadar MDA secara normal dapat menginduksi aktivasi enzim antioksidan, seperti superoksida dismutase (SOD) dan katalase (CAT) sehingga dapat menekan stress oksidatif. Hal ini terjadi melalui aktivasi faktor transkripsi yang mengatur ekspresi enzim antioksidan, seperti faktor inti eritroid 2 terkait faktor 2 (Nrf2).^{55,56}

Penelitian terdahulu menemukan bahwa senyawa polifenol menurunkan kadar MDA dan meningkatkan aktivitas SOD pada kulit tikus

yang terkena radiasi UVB. Temuan ini menunjukkan bahwa MDA dapat menghambat photoaging akibat iradiasi UVB melalui efek antioksidannya^{32,57}. Penelitian lain menemukan bahwa senyawa flavonoid terbukti menghambat melanogenesis dengan menurunkan regulasi photoaging akibat stres oksidatif yang dipicu sinar UV. Studi tersebut menemukan bahwa menurunkan kadar MDA dan meningkatkan aktivitas SOD dan katalase (CAT), yaitu enzim antioksidan yang melindungi terhadap stres oksidatif dan kerusakan memiliki efek yang kuat dalam mencegah photoaging.⁵⁸ Kerusakan enzim antioksidan dalam sel akibat paparan UV tunggal dapat digunakan sebagai penanda untuk menganalisis mekanisme iradiasi UV kronis.



Gambar 2.2. Diagram skematis mekanisme stres oksidatif yang diinduksi sinar UVB dan sistem pertahanan atau detoksifikasi antioksidan di kulit.

2.6. Sediaan Topikal

Obat topikal adalah obat yang mengandung dua komponen dasar yaitu zat pembawa (vehikulum) dan zat aktif. Zat aktif merupakan

komponen bahan topikal yang memiliki efek terapeutik, sedangkan zat pembawa adalah bagian inaktif dari sediaan topikal dapat berbentuk cair atau padat yang membawa bahan aktif berkontak dengan kulit⁵⁹. Idealnya zat pembawa mudah dioleskan, mudah dibersihkan, tidak mengiritasi serta menyenangkan secara kosmetik. Selain itu, bahan aktif harus berada di dalam zat pembawa dan kemudian mudah dilepaskan. Untuk mendapatkan sifat zat pembawa yang demikian, maka ditambahkanlah bahan atau unsur senyawa tertentu yang berperan dalam memaksimalkan fungsi dari zat pembawa. Pengetahuan mengenai farmakokinetik pada kulit sangat diperlukan dalam keberhasilan suatu pengobatan topikal. Farmakokinetik obat topikal menggambarkan perubahan konsentrasi obat setelah aplikasinya pada permukaan kulit, perjalanannya menembus sawar kulit dan jaringan di bawahnya, dan distribusinya ke dalam sirkulasi sistemik. Senyawa yang diaplikasikan pada permukaan kulit, termasuk obat topikal, masuk ke dalam kulit mengikuti suatu gradien konsentrasi (difusi pasif). Gradien konsentrasi ditimbulkan oleh perbedaan konsentrasi obat aktif dalam sediaan yang diaplikasikan pada kulit dan konsentrasi obat aktif dalam jaringan kulit serta jaringan di bawahnya (dermis dan subkutan). Analisis farmakokinetik dari suatu sediaan topikal yang diaplikasikan pada kulit meliputi pembahasan mengenai tiga kompartemen yang dilalui obat aktif, yaitu vehikulum sebagai pembawa obat aktif, stratum korneum, dan lapisan epidermis serta dermis⁵⁹.

2.6.1. Sediaan Gel

Beberapa bentuk sediaan topikal antara lain gel, krim, pasta dan salep. Bentuk sediaan yang nyaman untuk penggunaan topikal adalah bentuk sediaan gel. Gel terdiri dari suspensi semipadat yang terbuat dari partikel anorganik kecil atau molekul organik besar, yang terpenetrasi oleh suatu cairan. Sediaan gel memiliki kelebihan antara lain mempunyai sifat tiksotropi sehingga bila dioles mudah merata, tidak mudah mengalir pada permukaan kulit karena mempunyai viskositas dan daya lekat yang tinggi, tidak berbekas, hanya lapisan tipis seperti *film* saat dipakai, terdapat sensasi dingin saat digunakan dan mudah dicuci dengan air, penetrasinya lebih dalam dibandingkan krim, dapat digunakan pada area berambut dan secara kosmetika lebih disukai, gel cepat mencair bila kontak dengan kulit⁶⁰.

Polimer-polimer yang umum digunakan untuk membuat gel-gel farmasetik antara lain pektin gom alam tragakan, karagen, asam alginat, agar, serta bahan semisintetis dan sintetis seperti hidroksi etil selulosa, metil selulosa, karboksi metil selulosa, dan karbopol yang merupakan polimer vinil sintetis dengan gugus karboksil yang terionisasi. Gel dibuat melalui proses peleburan, atau memerlukan prosedur khusus berkaitan dengan sifat mengembang gel. Bahan pembentuk gel idealnya harus bersifat inert, tidak ada perubahan

viskositas pada penyimpanan yang normal, aman dan tidak bereaksi dengan bahan-bahan lain dalam formula ⁶¹.

Konsistensi gel dikarenakan bahan pembentuk gel yang setelah mengabsorpsi air akan membentuk struktur tiga dimensi. Gel mengabsorpsi larutan dan mengembang, dengan meningkatkan volume. Pengembangan merupakan tahap awal disperse yaitu terjadi penetrasi fase dari luar kedalam matriks gel dan menimbulkan interaksi diantara pembentuk gel dan solven. Gel merupakan interaksi di antara unit-unit fase koloidal dari senyawa anorganik dan organic, tidak terpisah dari fase luar, membentuk *structural viscosity*. Karakteristik gel harus disesuaikan dengan tujuan penggunaan gel, misalnya pada gel topikal jangan terlalu liat, konsentrasi dan berat molekul bahan pembentuk gel yang digunakan jangan terlalu tinggi sehingga dapat menyebabkan gel sulit didispersikan dan dioleskan ⁶².

Pemilihan basis dalam pembuatan gel, dapat mempengaruhi karakter gel yang terbentuk. Basis gel terbagi atas basis gel hidrofilik dan hidrofobik. Basis gel hidrofilik memiliki sifat yang memperlambat pengeringan sehingga cocok digunakan secara topikal karena kemampuannya bertahan lama di permukaan kulit. Gel hidrofilik mempunyai sistem koloid yang lebih stabil dan lebih mudah dibuat dibandingkan gel hidrofobik. Gel hidrofobik memiliki dasar yang terdiri atas fase anorganik, hanya sedikit interaksi di

antara dasar gel hidrofobik dengan fase pendispersinya. Bahan hidrofobik tidak menyebar dengan spontan.

Karakteristik cairan gel terbagi menjadi gel hidrofilik dan gel hidrofobik ⁶³:

- a. Gel hidrofilik, mempunyai basis terdiri dari molekul organik yang besar dan larut dengan fase pendispersi. Sistem koloidnya lebih stabil dan lebih mudah dibuat dibandingkan hidrofobik. Gel hidrofilik mengandung bahan pengembang, penahan lembab, air, dan pengawet. Karakteristik gel hidrofilik ini mempunyai aliran tiksotropik, kompatibel dengan beberapa eksipien, tidak lengket, larut dalam air, mudah menyebar dan mudah dibersihkan.
- b. Gel hidrofobik, basisnya mengandung minyak lemak atau polietilen dan parafin cair dengan bahan pembentuk gel koloidal silika atau zink sabun atau aluminium. Gel ini tersusun dari partikel anorganik, kemudian akan terjadi interaksi dengan basis gel jika ditambahkan ke dalam fase pendispersi. Basis gel hidrofobik tidak secara spontan menyebar.

Kontrol kualitas sediaan gel, meliputi ⁶⁴:

- a. Organoleptis, merupakan deskripsi sediaan gel yang terdiri atas warna, bentuk, bau, dan kejernihan. Pengamatan dilakukan secara makroskopis.
- b. Homogenitas, sediaan gel yang dihasilkan harus tercampur homogen dan merata. Pengujian homogenitas dapat dilakukan

dengan cara visual. Homogenitas gel diamati di atas kaca objek dengan adanya bantuan cahaya.

- c. Daya sebar, berkaitan dengan kenyamanan pada pemakaian, mudah dioles tanpa perlu penekanan yang berlebih. Sediaan topikal diharapkan memiliki daya sebar yang baik.
- d. Daya lekat, adalah kemampuan menempel pada lapisan epidermis, pengujiannya untuk mengetahui kemampuan melekat atau waktu retensi yang dihasilkan saat digunakan.
- e. Viskositas, mempengaruhi sifat sediaan dalam campuran dan sifat alirnya pada saat proses produksi, proses pengemasan, serta sifat-sifat penting pada saat pemakaian, seperti daya sebar, konsistensi atau bentuk, dan kelembaban. Selain itu, viskositas dapat mempengaruhi bioavailabilitas dan stabilitas fisik. Semakin tinggi viskositas, menyebabkan daya lekatnya semakin besar, sedangkan daya sebar akan semakin kecil. Viskositas sediaan dapat dinaikkan dengan penambahan polimer.
- f. pH, diukur segera pada saat sediaan telah selesai dibuat, diharapkan nilai pHnya sama dengan nilai pH tempat pemakaian atau kulit untuk mencegah terjadi iritasi. Kulit manusia memiliki pH normal antara 4,5-6,5.

2.7. Pengaruh gel ekstrak kulit petai terhadap kadar MDA dan IL-10 pada tikus yang dipapar UVB.

Petai (*Parkia speciosa* Hassk.) adalah kacang polong yang dapat dimakan dan berasal dari keluarga Fabaceae²⁵. Petai mengandung senyawa polifenol dan flavonoid yang berperan sebagai antioksidan dan antiinflamasi⁶⁵. Flavonoid yang terdapat dalam kulit petai berpotensi sebagai agen fotoprotektif karena memiliki kemampuan dalam menyerap sinar UV⁶⁶ serta berperan sebagai antioksidan dan anti-inflamasi^{67,68}. Sifat antioksidan kulit petai diduga mampu menghambat produksi ROS yang diinduksi UVB melindungi sel kulit dari stres oksidatif dan apoptosis yang diinduksi UVB dengan menghilangkan ROS yang berlebihan⁹. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa flavonoid dapat menghambat produksi ROS pada kulit akibat paparan UVB dan diharapkan mampu menurunkan kadar MDA^{49,69}.

Selain itu, flavonoid juga diketahui dapat mengaktifkan *nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2)⁷⁰. Kompleks Nrf2 dan Keap1 yang terikat bersama di dalam sitoplasma, ketika teraktivasi maka Nrf2 akan melepaskan diri melalui ubiquitinasi dari kompleks Keap1 dan mentranslokasi ke dalam nukleus; kemudian Nrf2 akan berikatan dengan ARE (Antioksidan Respons Elemen) untuk mengaktifkan gen antioksidan, seperti SOD. Respon antioksidan diharapkan mampu menghambat sinyal inflamasi AP-1 dan NF- κ B yang berdampak pada penurunan molekul inflamasi dan peningkatan molekul anti-inflamasi, seperti IL-10⁷¹.

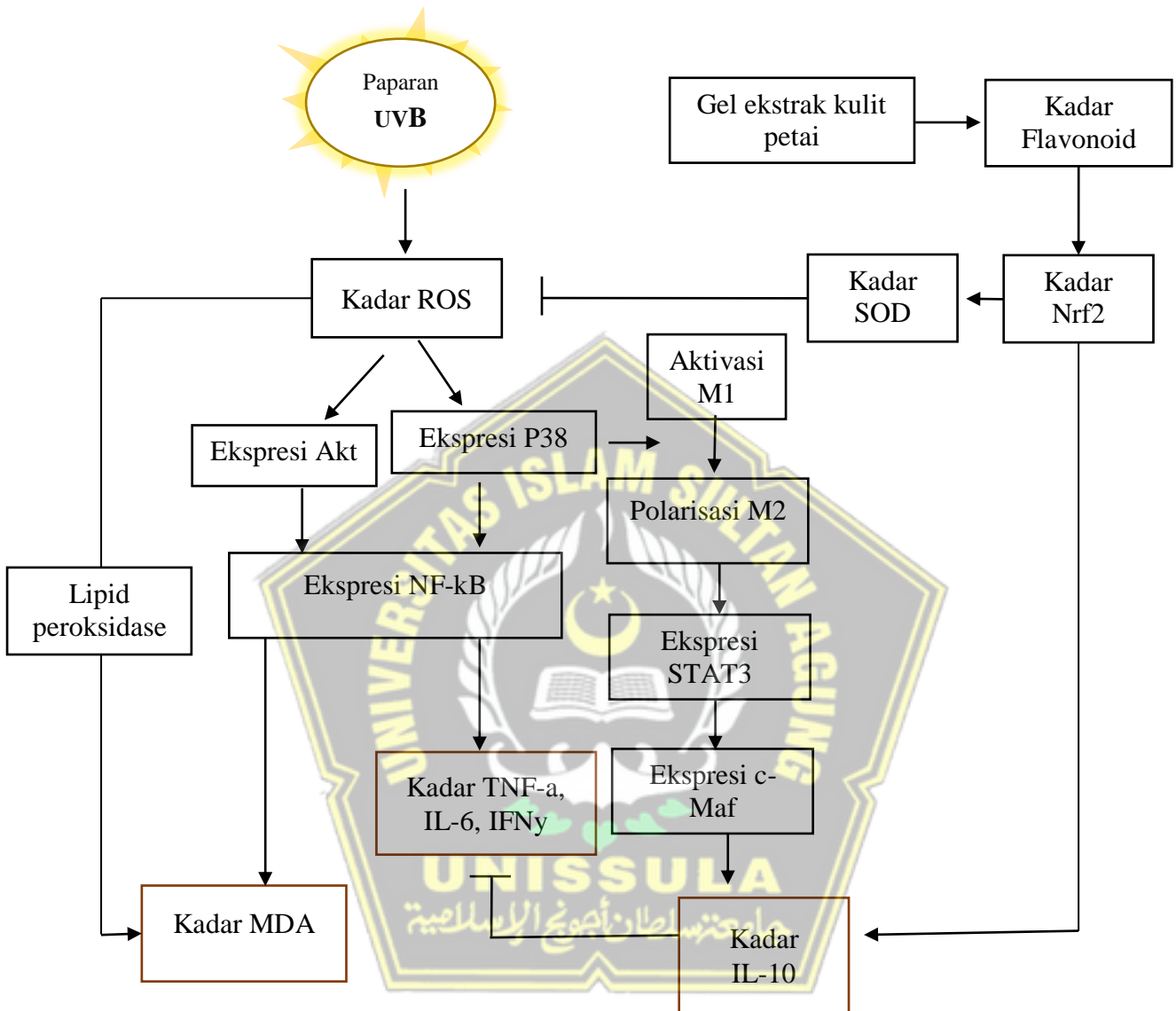
BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori

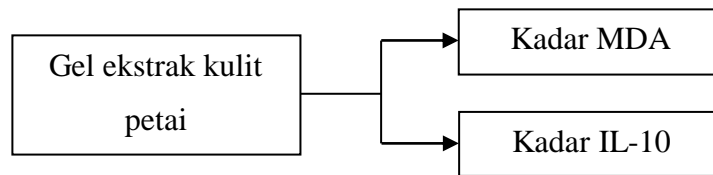
Paparan terhadap radiasi UVB dapat menginduksi penuaan kulit dini (photoaging)⁷², akibat kerusakan DNA dan tingginya produksi ROS⁶⁶. Jalur pensinyalan seperti p38 MAPK dan Akt memiliki peran penting dalam respons terhadap ROS pathway yang diinduksi UVB, yang mengarah ke proses inflamasi yang diperantarai AP-1 dan NF- κ B di kulit. Iradiasi UV menginduksi respon sinyal inflamasi melalui aktivasi faktor transkripsi, termasuk AP-1 (c-Fos / c-Jun) dan NF- κ B, yang kemudian akan meningkatkan MDA dan menurunkan peningkatan sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-6, dan INF γ ⁷¹. Peningkatan ROS akan menyebabkan oksidasi lipid sehingga meningkatkan kadar MDA. Aktivasi p38 MAPK akibat peningkatan ROS juga dapat menginduksi polarisasi makrofag M1 yang bersifat inflamasi menjadi makrofag M2 yang bersifat antiinflamasi yang menginduksi ekspresi IL-10 dan dapat menginduksi repair dengan menghambat sitokin proinflamasi^{73,74}. M2 yang bersifat antiinflamasi melalui jalur Nf-kB dan menginduksi fosforilasi STAT3 dapat meningkatkan ekspresi IL-10. Aktivasi homodimer STAT3 mengaktifkan c-Maf dan NF- κ B sehingga menginduksi pelepasan ekspresi IL-10.⁷⁵ IL-10 yang terekspresi juga dapat memiliki efek balik untuk mencegah M2 terpolarisasi kembali menjadi M1⁷⁶.

Sifat antioksidan kulit petai menghambat produksi ROS yang diinduksi UVB dan melindungi sel kulit dari stres oksidatif. Kulit petai diketahui mengandung beberapa zat aktif seperti flavonoid yang berperan sebagai antioksidan dan anti-inflamasi⁷⁷. Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa flavonoid dapat menghambat produksi ROS pada kulit akibat paparan UVB. Selain itu, flavonoid juga diketahui dapat mengaktifkan *nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2). Kompleks Nrf2 yang terikat bersama di dalam sitoplasma, ketika teraktivasi maka akan melepaskan diri melalui ubiquitinasi dan mentranslokasi ke dalam nukleus; kemudian Nrf2 mengaktifkan gen antioksidan (transkripsi gen antioksidan) yaitu SOD. Respon antioksidan tersebut berupa mengurangi kadar ROS, yang kemudian akan mengurangi peradangan dengan menghambat aktivitas berlebih Akt, dan mengurangi/memblok sinyal inflamasi AP-1 dan NF- κ B. Pemblokkan sinyal inflamasi tersebut dapat mencegah produksi MDA dan meningkatkan kadar IL-10.



Gambar 3.1. Kerangka Teori

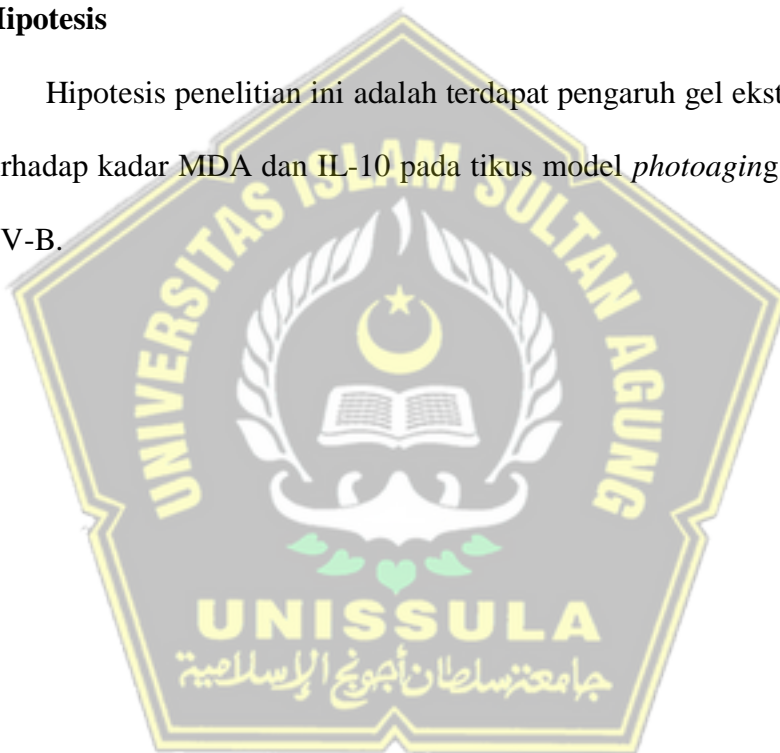
3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah terdapat pengaruh gel ekstrak kulit petai terhadap kadar MDA dan IL-10 pada tikus model *photoaging* yang terpapar UV-B.



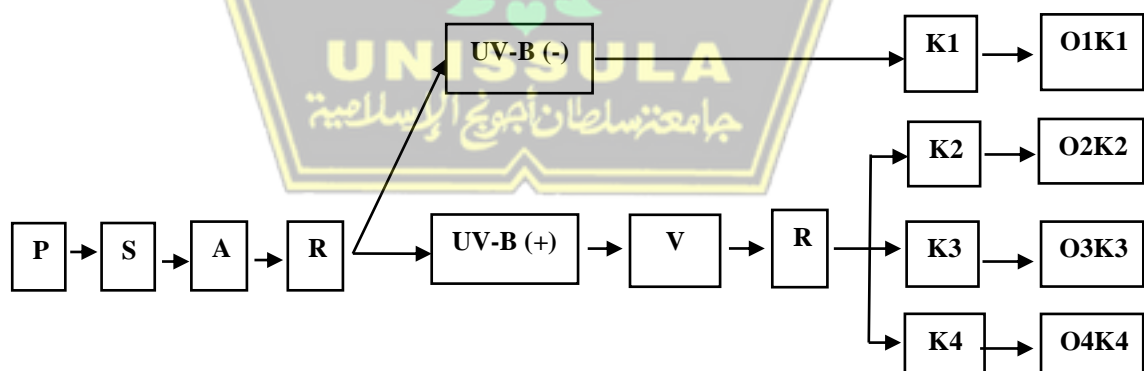
BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah *post test only control group* dengan metode rancang acak lengkap dengan enam kali ulangan tiap perlakuan. Subyek penelitian adalah tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) dengan bobot badan 200-250 gr. Perlakuan pada penelitian ini terdiri dari:

1. Tikus sehat tanpa paparan UVB,
2. Kontrol Negatif (Tikus yang dipapar UVB dengan perlakuan base gel topikal),
3. Perlakuan 1 (Tikus yang dipapar UVB dengan perlakuan gel ekstrak kulit petai secara topikal 10 %).
4. Perlakuan 2 (Tikus yang dipapar UVB dengan perlakuan gel ekstrak kulit petai secara topikal 20 %)



Gambar 4.1. Alur Rancangan Renelitian

Keterangan :

P : Populasi Penelitian

S : Sampel Penelitian (Tikus) Sehat

- A : Adaptasi
- V : Validasi
- R : Randomisasi
- Perlakuan : K1 : Tikus Sehat
- Perlakuan : K2: Kontrol Negatif (Tikus model photoaging dengan induksi sinar UVB tanpa pemberian terapi)
- Perlakuan : K3: Tikus model photoaging jaringan dengan induksi sinar UVB dengan pemberian ekstrak kulit petai dosis 10%.
- Perlakuan : K4: Tikus model photoaging jaringan dengan induksi sinar UVB dengan pemberian ekstrak kulit petai dosis 20%.
- O : Observasi

4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.2.1 Variabel Penelitian

4.2.1.1 Variabel bebas

Variabel bebas penelitian ini terdiri dari:

1. Pemberian gel ekstrak kulit petai dosis 10% secara topikal.
2. Pemberian gel ekstrak kulit petai dosis 20% secara topikal.

4.2.1.2 Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah kadar MDA dan IL-10.

4.2.2 Definisi Operasional

Tabel 4.1. Definisi Operasional

No	Variable	Deskripsi	Unit	Skala
1	Gel Ekstrak kulit petai	Gel ekstrak kulit petai adalah kulit petai yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dan dibuat sediaan gel dengan konsentrasi 10% dan 20%. Penggunaan gel ekstrak petai dilakukan setiap hari selama 2 minggu sebanyak 200mg gel per tikus yang dioleskan pada bagian dorsal tikus.	mg	Rasio
2	Kadar MDA	Kadar MDA adalah konsentrasi MDA yang diproduksi oleh jaringan kulit pada sampel penelitian. Kadar MDA dianalisis pada hari ke 14 setelah induksi UVB dan perlakuan gel ekstrak kulit petai, kadar MDA dianalisis menggunakan ELISA.	Pg/mL	Rasio
3	IL-10	Kadar IL-10 adalah konsentrasi IL-10 yang diproduksi oleh jaringan kulit pada sampel penelitian. Kadar IL-10 dianalisis pada hari ke 14 setelah induksi UVB dan perlakuan gel ekstrak kulit petai, kadar IL-10 dianalisis menggunakan metode ELISA.	Pg/mL	Rasio

4.3. Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian

4.3.1. Subyek Penelitian

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) berusia 2-3 bulan dengan bobot badan 200-250 gram yang didapatkan dari Peternakan Topik, Kaligawe, Semarang. Tikus wistar dinyatakan sehat dan layak digunakan untuk penelitian oleh dokter hewan.

4.3.2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah tikus wistar yang dipapar sinar UVB intensitas 302 nm dengan jarak 20 cm dan MED 390 mJ/cm² sebanyak enam kali selama 2 minggu hingga terjadi penurunan persentase melanin.

4.3.3. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

4.3.3.1. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi yang diterapkan dalam penelitian ini antara lain sebagai berikut :

1. Tikus putih jantan galur wistar
2. Umur 2-3 bulan.
3. Mengalami peningkatan persentase melanin akibat paparan UVB
4. Tikus sehat dan tidak cacat
5. Berat badan 200-250 gram.

4.3.3.2. Kriteria Eksklusi

Tikus putih jantan galur Wistar dengan kriteria:

1. Memiliki kelainan anatomis.
2. Sudah pernah digunakan untuk penelitian sebelumnya.

4.3.3.3. Kriteria *Drop Out*

Tikus yang masuk kriteria *drop out* pada penelitian ini adalah Tikus mati atau infeksi selama penelitian.

4.3.4. Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan secara acak. Tikus putih jantan galur Wistar dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok tikus sehat, Kontrol Negatif (tikus dipapar UVB tanpa pemberian perlakuan), Perlakuan 1 (tikus dipapar UVB dengan perlakuan gel ekstrak kulit petai 10% secara topikal) dan Perlakuan 2 (tikus dipapar UVB dengan perlakuan perlakuan gel ekstrak kulit petai 20% secara topikal). Pengambilan sampel darah atau jaringan dilakukan pada hari ke-14 setelah paparan UV-B dan pemberian terapi untuk melihat kadar MDA dan IL-10 berubah seiring waktu.

4.3.5. Besar Sampel

Sampel minimal mengikuti kriteria *federer* yaitu sebanyak 6 ekor per kelompok, dengan rumus:

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

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

$$3n - 3 \geq 15$$

$$n \geq 6$$

keterangan : t = banyaknya perlakuan

n = banyaknya sampel setiap perlakuan

4.4. Alat dan Bahan

4.4.1. Alat

Penelitian ini menggunakan peralatan untuk membuat hewan model yang terdiri dari UV *light* (puncak emisi 302 nm) dengan energi 390 mJ/cm², alat potong rambut elektrik, kandang paparan, kandang pemeliharaan, dan tempat air minum tikus. Peralatan yang digunakan untuk pengambilan data antara lain *swing sentrifuge*, vacutainer EDTA, tabung hematokrit, pot 5 mL, 6 mm *biopsy punch*, mikropipet, 1000 uL micropipet tip, dan *vial tube* 1,5 mL. Alat yang digunakan untuk analisis data adalah ELISA reader.

4.4.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri ekstrak petai, PBS (*Phosphate Buffered Saline*), analisis kit, aquades, ketamin, *xylazine water base gel*, etanol, akuades, pakan tikus, kloroform, dan minyak atsiri buah lemon.

4.5. Cara Penelitian

4.5.1. Perolehan Ethical Clearance

Permohonan *ethical clearance* penelitian diajukan kepada komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

4.5.2. Cara Pembuatan Ekstrak Kulit Petai

Kulit petai sebanyak \pm 600 gram dicacah, didehidrasi pada suhu 50 – 60° C dan dihaluskan menjadi bubuk kering. Bubuk kering diekstraksi melalui proses maserasi menggunakan etanol 70% kemudian disaring dan filtrat yang dihasilkan ditampung, residu kemudian dimaserasi kembali dengan metode yang sama. Kandungan etanol dihilangkan dengan cara diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga membentuk ekstrak kental. Ekstrak kental yang terbentuk kemudian disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 2-8°C.

4.5.3. Pembuatan Sediaan Gel Ekstrak Kulit Petai

1. Pembuatan sediaan gel dilakukan dengan cara mencampurkan basis gel sebanyak 200 mg dengan ekstrak kulit petai 10%b/b (20 mg) dan 20%b/b (40 mg).
2. Untuk menghilangkan aroma pada petai ditambahkan minyak atsiri buah lemon.
3. Pengadukan dilakukan dengan gerakan konstan hingga homogen dari karakter pengamatan di bawah mikroskop.

4.5.4. Penetapan Dosis

Dosis pemberian ekstrak kulit petai secara topikal ditentukan sebelum penelitian dengan studi literatur. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa dosis ekstrak kulit petai sebanyak 20% untuk penggunaan secara topikal mampu menunjukkan aktivitas anti-inflamasi dan antioksidan yang berujung pada penurunan kadar melanin²³. Terdapat penelitian lainnya yang mengaplikasikan ekstrak kulit petai konsentrasi 10% dan menunjukkan hasil bahwa ekstrak tersebut memiliki sifat antioksidan²⁴. Penelitian ini menggunakan dosis 10% dan 20% pada pemberian ekstrak kulit petai secara topikal. Penggunaan gel ekstrak kulit petai dilakukan setiap hari sebanyak 200 mg/tikus, sehingga dosis ekstrak kulit petai yang digunakan adalah 20 mg/tikus untuk dosis 10% dan 40 mg/tikus untuk dosis 20%.

4.5.5. Penyinaran UVB dan Pemberian Perlakuan pada Subjek Percobaan

1. Tikus diadaptasi selama 5 hari setelah sampai di tempat penelitian
2. Tikus dibius dengan campuran ketamine (60mg/kgBB) dan xylazine (20mg/kgBB) secara intra muscular sebanyak 0,5 mL
3. Rambut pada bagian punggung tikus dipotong hingga bersih dengan ukuran 5x5 cm

4. Punggung tikus dipapar dengan UVB yang berjarak 20 cm dengan *minimal erythema dose* (MED) 390 mJ/cm² 15 menit enam kali selama 2 minggu^{66,78}.

$$\text{Waktu penyinaran (menit)} = \frac{\text{Dosis UVB } (\frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2})}{\text{Intensitas sumber UVB } (\frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2/\text{second}})}$$

$$\text{Waktu penyinaran (menit)} = \frac{390 \text{ mJ/cm}^2}{0,43 \frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2/\text{second}}}$$

$$\text{Waktu penyinaran (menit)} = 906 \text{ second}$$

$$\text{Waktu penyinaran (menit)} = 15,11 \text{ menit} \sim 15 \text{ menit}$$

Keterangan: 0,43 mJ/cm²/second adalah intensitas UVB dari sumber lampu UVB yang digunakan pada penelitian ini (*UV light broadband with peak emission at 302 nm, CL-1000 M, UVP, USA*).

5. Tikus Perlakuan 1 diberi perlakuan gel ekstrak kulit petai secara topikal 10% yang diberikan satu kali sehari selama 14 hari. Tikus perlakuan 2 diberi perlakuan gel ekstrak kulit petai secara topikal 20% yang diberikan satu kali sehari selama 14 hari.

4.5.6. Pengambilan Sampel Jaringan

Tikus setelah 24 jam pasca pemberian perlakuan terakhir dimatikan dengan cara servikal dislokasi untuk proses pengambilan jaringan. Jaringan kulit diambil menggunakan biopsi punch 6 mm di bagian kulit yang terpapar UVB. Sampel darah disimpan pada vacutainer EDTA untuk analisis ELISA.

4.5.7. Pembuatan Blok Parafin.

Pembuatan blok paraffin dilakukan dengan beberapa tahap antara lain sebagai berikut :

1. Dehidrasi

Potongan jaringan dimasukkan dalam alkohol bertingkat dari 30%, 40%, 60%, 50%, 70%, 80%, 90%, 96% agar cairan keluar dari dalam jaringan. Jaringan kemudian dimasukkan ke dalam larutan alcohol-xylol selama 1 jam dan jaringan kemudian dimasukan dalam larutan xylol murni selama 2 x 2 jam.

2. Parafinisasi dan Embedding

Jaringan yang telah melalui proses dehidrasi dimasukan ke dalam parafin cair selama 2 x 2 jam dan tunggu hingga parafin memadat. Jaringan yang telah terparafin dipotong dengan ketebalan 4 mikron menggunakan mikrotom. Hasil potongan jaringan ditempelkan pada object glass yang sudah dilapisi polilisin sebagai perekat. Masukan jaringan pada kaca obyek deparafinasi dalam inkubator dan dipanaskan dengan suhu 56-58°C hingga parafin mencair.

4.5.8. Validasi Photoaging setelah induksi UVB Menggunakan Pengecatan Masson Fontana untuk deteksi melanin

Pengecatan melanin dilakukan dengan menggunakan metode pengecatan *Masson Fontana* dengan tahapan sebagai berikut :

1. Slide jaringan dideparafinisasi.
2. Slide diinkubasi dalam *Working Silver Solution* selama 2 menit, kemudian bilas dengan air.
3. Slide diinkubasi dalam larutan 0.1% *Gold chloride* 10 menit, kemudian dibilas dengan air.
4. Slide diinkubasi dalam larutan 5% Hypo selama 5 menit kemudian dibilas dengan air.
5. Slide diinkubasi dalam larutan *Nuclear-fast red* selama 5 menit, kemudian dibilas dengan air.
6. Slide dilakukan proses dehidrasi, kemudian pasang *desk glass*.
7. Positif melanin sel ditandai dengan warna kehitaman pada sel melanosit pada bagian epidermis kulit.

4.5.9. Analisis Kadar MDA dan IL-10 menggunakan ELISA

Sampel jaringan kulit dilakukan ekstraksi protein menggunakan RIPA buffer dalam sonikator selama 20 detik. Kadar protein total dianalisis menggunakan Uji Bradford. Penyetaraan konsentrasi kemudian dilakukan menggunakan pengenceran dengan *sample dilution buffer*. Analisis ELISA MDA dan IL-10 dilakukan berdasarkan protokol pabrikan. Pembacaan ELISA kemudian dilakukan menggunakan ELISA reader dengan panjang gelombang 450 nm.

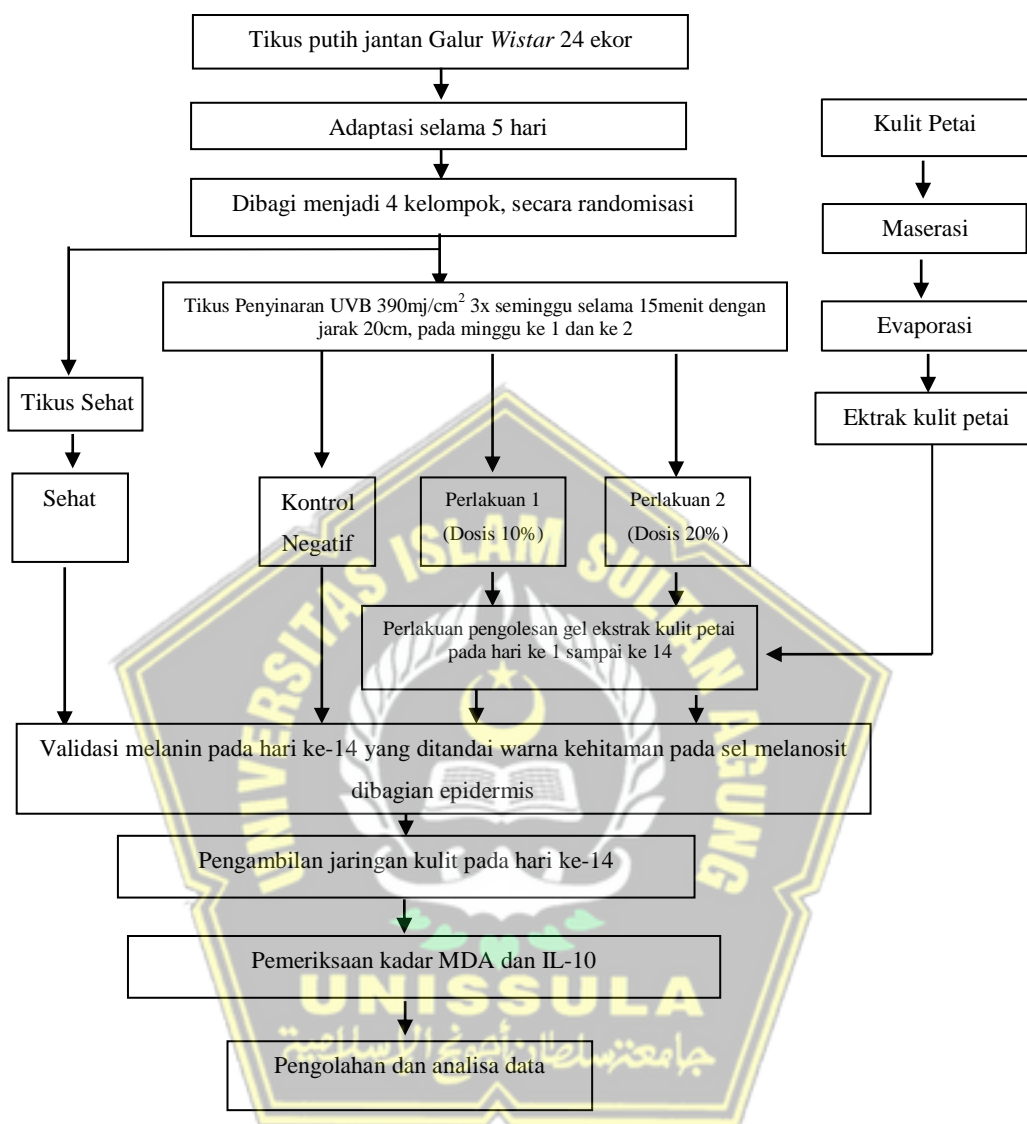
4.6. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium *Stem Cell & Cancer Research* (SCCR). Penelitian dilakukan pada bulan Oktober – November 2023.

4.7. Analisa Data

Data dianalisis menggunakan uji deskriptif, normalitas, dan homogenitas. Kemudian dilakukan uji normalitas data dengan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas varian data dengan uji *Levene*. Apabila sebaran data normal dan varian data sama, maka akan dilakukan uji parametrik uji *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* LSD dan Duncan untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok. Bila terdapat sebaran data tidak normal dan varian tidak sama (tidak homogen), maka dilakukan uji *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan uji non parametrik *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok. Apabila sebaran data normal dan varian data tidak sama, maka akan dilakukan uji parametrik uji *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tamhane*. Tingkat kemaknaan statistik yang digunakan yaitu $p < 0,05$. Pengolahan analisis data dilakukan dengan menggunakan SPSS 22.0 for Windows.

4.8 Alur Penelitian



Gambar 4.2. Alur penelitian

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh pemberian gel ekstrak kulit petai terhadap kadar MDA dan IL-10 pada tikus model photoaging. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan selama bulan Oktober hingga November 2023 bertempat di laboratorium *Stem Cell and Cancer Research (SCCR)* Indonesia, Semarang.

Penelitian ini menggunakan tikus Wistar jantan sebagai subjek penelitian yang diinduksi photoaging menggunakan UV-B 302 nm dengan intensitas energi 390mJ/cm² selama tiga kali seminggu sepanjang dua minggu⁷⁹. Jumlah tikus yang digunakan adalah 24 ekor tikus sesuai kriteria fedderer. Pada penelitian ini tikus dibagi menjadi 4 kelompok, kelompok sehat, kelompok kontrol negatif, kelompok yang diberikan gel ekstrak kulit petai dosis 10% dan kelompok yang diberikan gel ekstrak kulit petai dosis 20%. Ekstrak kulit petai yang digunakan dalam penelitian ini diekstraksi dari kulit petai species *Parkia speciosa* berdasarkan hasil determinasi tanaman.

5.1 HASIL PENELITIAN

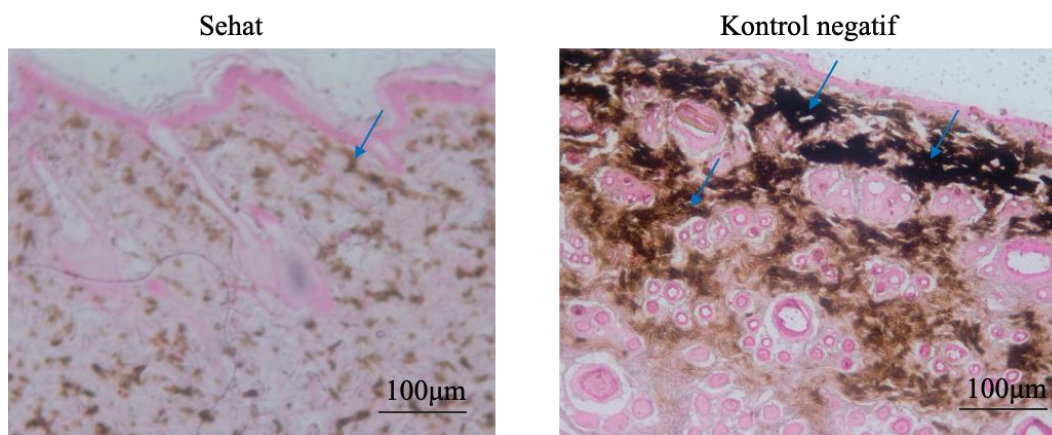
5.1.1 Ekstraksi Kulit Petai

Ekstrak kulit petai pada penelitian ini diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol dan menghasilkan rendemen ekstrak sebesar 8,00%. Hasil skrining fitokimia ekstrak kulit petai menunjukkan bahwa kulit petai positif mengandung senyawa golongan fenol, fenolik, tannin, flavonoid, terpenoid, dan

saponin (Lampiran 2). Pada penelitian ini juga dilakukan penentuan total flavonoid dan fenolik dalam ekstrak kulit petai dengan menggunakan metode spektrofotometri. Dalam 1 gram ekstrak kulit petai mengandung flavonoid sebesar $65,27\text{mg} \pm 1,20$ dan fenolik sebesar $44,70\text{mg} \pm 1,22$. Hasil ini membuktikan bahwa sebagian besar senyawa yang terkandung di dalam ekstrak kulit petai adalah golongan flavonoid.

5.1.2 Validasi Model Photoaging

Pada penelitian ini menggunakan model photoaging. Hewan model diinduksi photoaging dengan irradiasi UVB 302 nm dengan intensitas energi $390\text{mJ}/\text{cm}^2$ selama tiga kali seminggu sepanjang dua minggu. Validasi photoaging diamati pada hari ke 14. Pada pewarnaan *Fontana masson* menunjukkan bahwa terjadi peningkatan produksi melanin secara signifikan yang ditandai dengan pigmen berwarna coklat pada bagian epidermis (sel melanosit). Pada kelompok yang diberikan irradiasi UVB (kontrol negatif) jumlah melanin meningkat sebesar hingga 46,5% (Gambar 5.1).



Gambar 5.1. Validasi photoaging dengan pewarnaan fontana masson (A) Tikus sehat dan (B) Tikus yang mendapatkan irradiasi UVB. Panah warna biru menunjukkan positif melanin, perbesaran 100x.

5.1.3 Efek Pemberian Gel Ekstrak Kulit Petai Dosis 10% dan 20% Terhadap kadar MDA

Pada penelitian ini, peneliti mendapatkan hasil bahwa gel ekstrak kulit petai mampu menurunkan kadar MDA dan meningkatkan kadar IL-10 pada tikus model photoaging secara signifikan (Tabel 5.1; Gambar 5.2).

Tabel 5.1. Data hasil Penelitian kadar MDA dan IL-10

Variabel	Kelompok				pvalue
	Sehat=5 Mean±SD (K1)	Kontrol negatif n=5 Mean±SD (K2)	Gel Ekstrak Kulit Petai Dosis 10% n=5 Mean±SD (K3)	Gel Ekstrak Kulit Petai Dosis 20% n=5 Mean±SD (K4)	
Kadar MDA	0,98±0,23	1,65±0,30	0,71±0,11	0,61±0,15	
<i>Saphiro wilk</i>	0,124*	0,725*	0,724*	0,413*	
<i>Levene test</i>					0,221**
<i>One-way ANOVA</i>					0,000***
Kadar IL-10	148,24±4,94	96,42±6,16	189,00±11,41	252,49±4,37	
<i>Saphiro wilk</i>	0,830*	0,144*	0,696*	0,710*	
<i>Levene test</i>					0,040
<i>One-way ANOVA</i>					0,000***

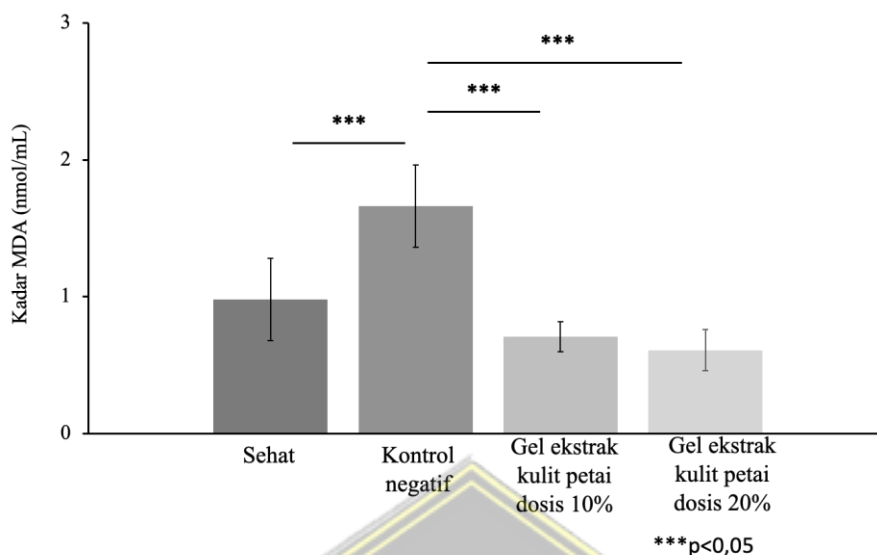
Keterangan :

*Uji Saphiro Wilk ($p > 0,05$ = normal)

** Levene's Test ($p > 0,05$ = homogen)

*** one way ANOVA ($p < 0,05$ = ada beda makna)

Berdasarkan hasil penelitian yang ditunjukkan pada tabel 5.1. Rerata kadar MDA di kelompok K4 yang terendah ($0,61 \pm 0,15$), kemudian diikuti oleh rerata kadar MDA kelompok K3 ($0,71 \pm 0,11$). Kadar MDA tertinggi pada kelompok perlakuan kontrol negatif (K2) sebesar $1,65 \pm 0,30$. Data kadar MDA semua kelompok berdistribusi normal, ditunjukkan dengan hasil *Shapiro Wilk* diperoleh nilai $p > 0,05$ dan juga memiliki varian data yang homogen ditunjukkan dengan hasil *Levene's Test* dengan nilai $p = 0,221$ ($p > 0,05$). Distribusi dan varian data kadar MDA normal dan homogen, maka dilakukan analisis statistik parametrik dengan uji *one way ANOVA* menghasilkan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) sehingga dinyatakan terdapat perbedaan rerata kadar MDA yang bermakna di antara keempat kelompok. Hasil uji *one way ANOVA* yang signifikan dilanjutkan dengan uji *post hoc LSD* untuk melihat kelompok mana yang paling berpengaruh.



Gambar 5.2. Grafik kadar MDA Pada Seluruh Kelompok Penelitian

Tabel 5.2. Uji *post hoc* LSD kadar MDA pada Masing-masing Kelompok

Kelompok	Kelompok Perbandingan	Sig.	Interval Kepercayaan 95%	
			Batas Bawah	Batas Atas
K1	K2*	0,000	-0,9476	-0,4014
	K3	0,046	0,0048	0,5510
	K4	0,374	0,1018	0,6480
K2	K3*	0,000	0,6793	1,2252
	K4*	0,000	0,7763	1,3225
K3	K4	0,467	-0,1761	0,3701

Tanda * ($p < 0.05$) menunjukkan kelompok yang berbeda signifikan.

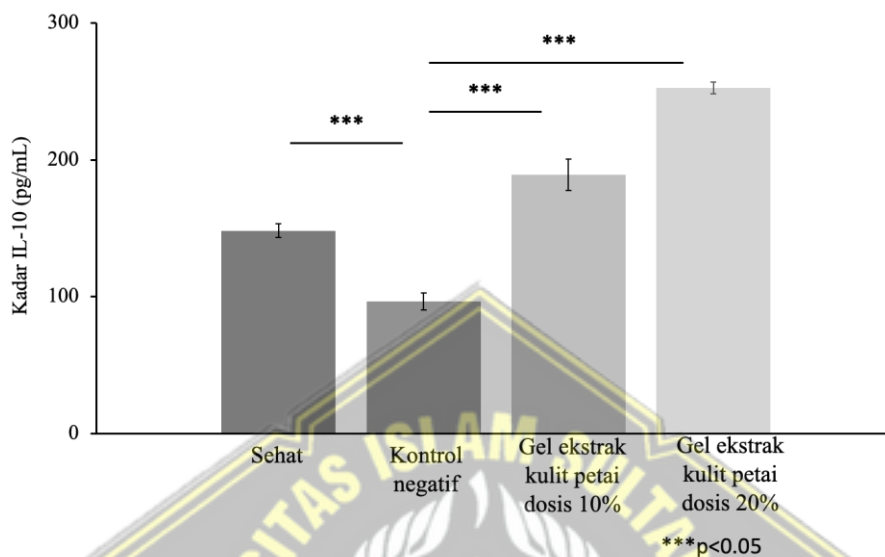
Berdasarkan data di atas didapatkan rerata perbandingan antara kelompok K2 dengan K3 (0,000) dan K2 dengan K4 (0,000) yang menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna, sedangkan perbandingan kelompok K3 dan K4 (0,467)

tidak ada perbedaan yang bermakna. Pada perbandingan K1 dan K2 diperoleh nilai 0,000 ($p < 0,05$) sehingga terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok tersebut. Penurunan kadar MDA paling signifikan ditunjukkan pada pemberian ekstrak kulit petai 20% dengan nilai batas bawah 0,7763 dan nilai batas atas 1,3225. Hasil uji *post hoc LSD* pada data kadar MDA menunjukkan bahwa pemberian gel ekstrak kulit petai yang dapat menurunkan kadar MDA pada tikus jantan galur wistar model photoaging.

5.1.4 Efek Pemberian Gel Ekstrak Kulit Petai Dosis 10% dan 20% Terhadap Kadar IL-10

Pada penelitian ini, peneliti mendapatkan hasil bahwa gel ekstrak kulit petai mampu meningkatkan kadar IL-10 pada tikus model photoaging secara signifikan (Tabel 5.1; Gambar 5.3). Berdasarkan hasil penelitian yang ditunjukkan pada tabel 5.1. Rerata kadar IL-10 di kelompok K4 ($252,49 \pm 4,37$) yang tertinggi, kemudian diikuti oleh rerata kadar IL-10 kelompok K3 ($189,00 \pm 11,41$). Data kadar IL-10 terendah yaitu pada kelompok kontrol negatif sebesar $96,42 \pm 6,16$. Data kadar IL-10 semua kelompok berdistribusi normal, ditunjukkan dengan hasil *Shapiro Wilk* diperoleh nilai $p > 0,05$ dan juga memiliki varian data yang tidak homogen ditunjukkan dengan hasil *Levene's Test* dengan nilai $p = 0,040$ ($p < 0,05$). Distribusi dan varian data kadar IL-10 normal dan tidak homogen, maka dilakukan analisis statistik parametrik dengan uji *one way ANOVA* menghasilkan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) sehingga dinyatakan terdapat perbedaan rerata kadar IL-10 yang bermakna di antara keempat kelompok. Hasil uji *one way ANOVA* yang signifikan

dilanjutkan dengan uji *post hoc Tamhane* untuk melihat kelompok mana yang paling berpengaruh.



Gambar 5.3. Grafik kadar IL-10 pada seluruh kelompok penelitian

Tabel 5.2. Uji *post hoc Tamhane* kadar IL-10 pada Masing-masing Kelompok

Kelompok	Kelompok Perbandingan	Sig.	Interval Kepercayaan 95%	
			Batas Bawah	Batas Atas
K1	K2*	0,000*	38,1172	65,5388
	K3	0,005*	-65,8630	-15,6530
	K4	0,000*	-115,5644	-92,9396
K2	K3*	0,000*	-117,1969	-67,9751
	K4*	0,000*	-169,4829	-142,677
K3	K4	0,001*	-88,9755	-38,0125

Tanda * menunjukkan kelompok yang berbeda signifikan.

Berdasarkan data di atas didapatkan perbandingan rerata K2 (kontrol negatif) dengan K3 (gel ekstrak kulit petai 10%) (0,000) dan K4 (gel ekstrak kulit petai 20%) (0,000) yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna, sedangkan K3 dan K4 (0,001) tidak ada perbedaan yang bermakna. Pada perbandingan kelompok K1 dan K2 diperoleh nilai 0,000 ($p < 0,05$) sehingga terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok tersebut. Nilai kadar IL-10 tertinggi paling signifikan ditunjukkan pada pemberian gel ekstrak kulit petai 20% dengan nilai batas bawah -169,4829 dan nilai batas atas -142,677. Hasil uji *post hoc Tamhane* pada data kadar IL-10 menunjukkan bahwa pemberian gel ekstrak kulit petai yang dapat meningkatkan kadar IL-10 pada tikus jantan galur wistar model photoaging.

5.2. Pembahasan Hasil Penelitian

Radiasi sinar UVB merupakan penyebab utama photoaging kulit yang berdampak pada photoaging yang ditandai dengan kondisi inflamasi yang berlebihan.⁸⁰ Respon inflamasi yang diinduksi UVB dan fotoaging kulit disebabkan oleh peningkatan produksi stress oksidatif (ROS) sehingga mengaktifasi jalur pensinyalan NF-kB di epidermis yang berdampak pada penekanan sitokin anti inflamasi seperti IL-10.^{81,82} Penelitian terdahulu melaporkan bahwa peningkatan ROS akan mengaktifkan MDA sehingga akan menginduksi faktor transkripsi NF-kB dan melepaskan sitokin proinflamasi yang berperan penting dalam *maintance* dan ekspansi proses fotoaging kulit.^{83,84} Hal ini mengesankan bahwa penekanan MDA dan peningkatan produksi sitokin antiinflamasi diharapkan dapat menekan proses melanogenesis yang diinduksi

radiasi sinar UVB. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian gel ekstrak kulit petai dosis 10% dan 20% terhadap kadar MDA dan IL-10 pada tikus model photoaging. Tikus diinduksi menggunakan paparan sinar UVB dengan panjang gelombang 302 nm dan intensitas energi 390 mJ/cm² sebanyak tiga kali seminggu selama 2 minggu.

Penelitian ini menganalisis kadar MDA pada tikus model photoaging, MDA adalah penanda terjadinya stress oksidatif. Penelitian-penelitian sebelumnya telah mengkonfirmasi bahwa senyawa antioksidan seperti flavonoid, fenolik, saponin dan tannin mampu menurunkan dan menjaga keseimbangan kadar ROS dengan cara meningkatkan pembentukan antioksidan dan menekan MDA.⁸⁵⁻⁸⁸ Regulasi keseimbangan antara level ROS dan antioksidan sangat penting dalam beberapa jalur transduksi sinyal seluler di antaranya pengaturan sintesis melanin⁸⁹. MDA dapat menghambat respirasi mitokondria, menyebabkan disfungsi mitokondria, dan memiliki efek toksik pada enzim tertentu, yang dapat berdampak pada pembentukan ROS.^{90,91} Senyawa metabolit sekunder dapat menangkap ROS dan ion logam khelat, yang membantu menstabilkan radikal bebas karena adanya gugus hidroksil fenolik.^{92,93} Selain itu, flavonoid dapat mengaktifkan enzim antioksidan, menekan enzim pro-oksidan, dan merangsang produksi enzim antioksidan dan enzim detoksifikasi fase II, yang semuanya berkontribusi terhadap penghambatan produksi MDA.⁹⁴⁻⁹⁶ Penelitian terdahulu juga melaporkan bahwa struktur flavonoid mempengaruhi penghambatan peroksidasi lipid sehingga menghambat produksi MDA.⁹⁷⁻⁹⁹ Penghambatan MDA ini akan mencegah aktivasi Nf-kB untuk menginduksi sintesis melanin. Penelitian

terdahulu juga melaporkan bahwa flavonoid dapat menekan stres oksidatif dan proliferasi sel melanosit. Dosis rendah flavonoid secara signifikan mengurangi kadar MDA, yang menunjukkan pengurangan stres oksidatif.^{100,101} Namun, flavonoid dosis tinggi menunjukkan efek sebaliknya, meningkatkan stres oksidatif. Fenomena ini sama dengan pemberian ekstrak kulit petai pada penelitian ini, dimana dosis yang digunakan merupakan dosis rendah sehingga sangat potensial menekan kadar MDA. Bifasik efek flavonoid pada kadar MDA menggarisbawahi pentingnya mempertimbangkan konsentrasi dan konteks penerapannya.

Pada penelitian ini juga menganalisis kadar IL-10 yang merupakan sitokin antiinflamasi yang berperan dalam mencegah inflamasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat peningkatan kadar IL-10 secara signifikan pada semua kelompok perlakuan dibanding kontrol, di mana peningkatan optimum terjadi pada gel ekstrak kulit petai dosis 20%. Hal ini diduga dapat terjadi karena kandungan kandungan sekunder pada ekstrak kulit petai yang memiliki aktivitas antiinflamasi. Penelitian terdahulu melaporkan bahwa senyawa flavonoid dan fenolik dapat menginduksi IL-10 yang berperan dalam penekanan inflamasi melalui aktivasi beberapa protein intraseluler, salah satunya adalah *Suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS3)*.^{102,103} IL-10 akan berikatan pada receptor dan mengaktifasi jalur pensinyalan *signal transducer and activator of transcription 3 (STAT-3)*. Protein STAT3 akan masuk ke nukleus dan mengaktifasi sekuens mRNA SOCS3. Protein SOCS3 kemudian diekspresikan secara intraseluler dan menekan berbagai jalur pensinyalan proinflamasi, salah satunya adalah NF-

kB.^{90,104} Penekanan jalur NF-kB akan berujung pada penurunan sekresi berbagai sitokin proinflamasi yang akan menghambat proses melanogenesis.¹⁰⁵ Penelitian terdahulu melaporkan bahwa senyawa flavonoid seperti dosis luteolin-7-sulfat yang juga terkandung dalam ekstrak etanol petai menekan sintesis melanin dalam sel melanoma.¹⁰⁶ Senyawa flavonoid juga berpengaruh dalam pencegahan dan pengobatan melanoma melalui penghambatannya pada aktivitas tirosinase dan sintesis melanin. Penghambatan aktivitas tyrosinase pada sintesis melanin disebabkan senyawa IL-10 mencegah aktivasi MIF *pathway* sehingga tidak terjadi sintesis L-DOPA menjadi melanin.¹⁰⁷⁻¹⁰⁹

Peningkatan kadar IL-10 tersebut didukung oleh penelitian ini, di mana pemberian gel ekstrak kulit petai pada dosis 10% dan 20% mampu meningkatkan kadar IL-10 secara signifikan dibanding kontrol pada tikus model photoaging. Peningkatan kadar IL-10 paling optimal dihasilkan oleh gel ekstrak kulit petai dosis 20%. IL-10 akan menghambat jalur STAT dan MAPK sehingga mencegah aktivasi enzim tirosinase, TRP1, dan TRP2 yang menyebabkan penekanan sintesis melanin.^{110,111} Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa gel ekstrak kulit petai memiliki aktivitas anti-inflamasi pada model tikus photoaging melalui penekanan kadar MDA dan peningkatan kadar IL-10. Hal ini mengesankan bahwa gel ekstrak kulit petai memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai terapi yang tertarget dalam penekanan proses inflamasi, terutama pada photoaging kulit. Keterbatasan penelitian ini adalah kurangnya pemeriksaan kadar ROS dan eksplorasi jalur NF-kB setelah pengaplikasian gel ekstrak kulit buah

petai, sehingga mekanisme molekuler langsung ekstrak mengenai pencegahan produksi melanin masih belum diketahui secara jelas.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan:

1. Pemberian ekstrak kulit petai pada dosis 10% dan 20% berpengaruh terhadap penurunan kadar MDA pada tikus jantan galur *Wistar* model photoaging yang diinduksi sinar UVB.
2. Pemberian ekstrak kulit petai pada dosis 10% dan 20% berpengaruh terhadap peningkatan kadar IL-10 pada tikus jantan galur *Wistar* model photoaging yang diinduksi sinar UVB.

a. Saran

Sebagai saran untuk penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan pemeriksaan lebih lanjut tentang pengukuran kadar ROS setelah dilakukan pemberian gel ekstrak kulit petai pada tikus galur *Wistar* model photoaging.
2. Perlu dilakukan pemeriksaan lebih lanjut tentang pengukuran ekspresi gen NF-kB setelah dilakukan pemberian gel ekstrak kulit petai pada tikus galur *Wistar* model photoaging.

DAFTAR PUSTAKA

1. Fauziyyah RNP, Komariah M, Herliani YK. Sunlight Exposure and Protection Behavior as Prevention of Skin Cancer in Nursing Students. *Indonesian Journal of Cancer*. 2023;17(1):1. doi:10.33371/ijoc.v17i1.921
2. Nimitphong H, Holick MF. Vitamin D status and sun exposure in Southeast Asia. *Dermatoendocrinol*. 2013;5(1):34-37. doi:10.4161/derm.24054
3. Du Y, Doraiswamy C, Mao J, et al. Facial skin characteristics and concerns in Indonesia: A cross-sectional observational study. *Skin Research and Technology*. 2022;28(5):719-728. doi:10.1111/srt.13189
4. Jablonski NG, Chaplin G. Human skin pigmentation as an adaptation to UV radiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(SUPPL. 2):8962-8968. doi:10.1073/pnas.0914628107
5. Baliña LM, Graupe K. The Treatment of Melasma 20% Azelaic Acid versus 4% Hydroquinone Cream. *Int J Dermatol*. 1991;30(12):893-895. doi:10.1111/j.1365-4362.1991.tb04362.x
6. D'Orazio J, Jarrett S, Amaro-Ortiz A, Scott T. UV radiation and the skin. *Int J Mol Sci*. 2013;14(6):12222-12248. doi:10.3390/ijms140612222
7. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014:360438. doi:10.1155/2014/360438
8. Egrilmez MY, Koçturk S, Aktan S, et al. Melatonin Prevents UVB-Induced Skin Photoaging by Inhibiting Oxidative Damage and MMP Expression through JNK/AP-1 Signaling Pathway in Human Dermal Fibroblasts. *Life*. 2022;12(7). doi:10.3390/life12070950

9. Geng R, Kang SG, Huang K, Tong T. Boosting the Photoaged Skin: The Potential Role of Dietary Components. *Nutrients*. 2021;13(5):1691. doi:10.3390/nu13051691
10. Zhan JYX, Wang XF, Liu YH, et al. Andrographolide sodium bisulfate prevents uv-induced skin photoaging through inhibiting oxidative stress and inflammation. *Mediators Inflamm*. 2016;2016. doi:10.1155/2016/3271451
11. Fischer R, Maier O. Interrelation of oxidative stress and inflammation in neurodegenerative disease: role of TNF. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;2015:610813. doi:10.1155/2015/610813
12. Chhikara N, Devi HR, Jaglan S, Sharma P, Gupta P, Panghal A. Bioactive compounds, food applications and health benefits of *Parkia speciosa* (stinky beans): A review. *Agric Food Secur*. 2018;7(1). doi:10.1186/s40066-018-0197-x
13. Ralte L, Khiantge L, Thangjam NM, Kumar A, Singh YT. GC–MS and molecular docking analyses of phytochemicals from the underutilized plant, *Parkia timoriana* revealed candidate anti-cancerous and anti-inflammatory agents. *Sci Rep*. 2022;12(1). doi:10.1038/s41598-022-07320-2
14. Mustafa NH, Ugusman A, Jalil J, Kamisah Y. Anti-inflammatory property of *Parkia speciosa* empty pod extract in human umbilical vein endothelial cells. *J Appl Pharm Sci*. 2018;8(1):152-158. doi:10.7324/JAPS.2018.8123
15. Andy S, Najatullah, Nugroho Trilaksana, Neni Susilaningih. The Effect of Ethanolic Extract from *Moringa oleifera* Leaves in Collagen Density and Numbers of New Capillary Vessel Count on Wistar Rats Burn Wound. *Bioscientia Medicina : Journal of Biomedicine and Translational Research*. 2022;6(6):1936-1941. doi:10.37275/bsm.v6i6.536

16. Siow HL, Gan CY. Extraction of antioxidative and antihypertensive bioactive peptides from *Parkia speciosa* seeds. *Food Chem.* 2013;141(4):3435-3442. doi:10.1016/j.foodchem.2013.06.030
17. Azemi AK, Nordin ML, Hambali KA, Noralidin NA, Mokhtar SS, Rasool AHG. Phytochemical Contents and Pharmacological Potential of *Parkia speciosa* Hassk. for Diabetic Vasculopathy: A Review. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(2). doi:10.3390/antiox11020431
18. Iqbal IY. *PEMBERIAN KRIM EKSTRAK ETANOL BIJI PETAI (Parkia Speciosa) 20% SAMA EFEKTIF DENGAN KRIM HIDROKUINON 4% DALAM MENGHAMBAT PEMBENTUKAN JUMLAH MELANIN PADA KULIT MARMUT (Cavia Porcellus) YANG DIPAPAR SINAR ULTRAVIOLET B IRAH YUNITA IQBAL.*
19. Mustafa NH, Ugusman A, Jalil J, Kamisah Y. Anti-inflammatory property of *Parkia speciosa* empty pod extract in human umbilical vein endothelial cells. *J Appl Pharm Sci.* 2018;8(1):152-158. doi:10.7324/JAPS.2018.8123
20. Putri RS, Putra A, Chodidjah, et al. Clitorea ternatea flower extract induces platelet-derived growth factor (Pdgf) and gpx gene overexpression in ultraviolet (uv) b irradiationinduced collagen loss. *Med Glas.* 2023;20(1):15-21. doi:10.17392/1530-22
21. Gui JS, Jalil J, Jubri Z, Kamisah Y. *Parkia speciosa* empty pod extract exerts anti-inflammatory properties by modulating NFκB and MAPK pathways in cardiomyocytes exposed to tumor necrosis factor-α. *Cytotechnology.* 2019;71(1):79-89. doi:10.1007/s10616-018-0267-8
22. Iqbal IY. *Pemberian Krim Ekstrak Etanol Biji Petai (Parkia Speciosa) 20% Sama Efektif Dengan Krim Hidrokuinon 4% Dalam Menghambat Pembentukan Jumlah Melanin Pada Kulit Marmut (Cavia Porcellus) Yang Dipapar Sinar Ultraviolet B.* Universitas Udaya; 2019.

23. Ningsih SW UTSAWA. Kandungan Senyawa Ekstrak Kulit Petai dengan pelarut etanol 70% dan Etil Asetat. 2021;5.
24. Al Batran R, Al-Bayaty F, Jamil Al-Obaidi MM, et al. In Vivo Antioxidant and Antiulcer Activity of *Parkia speciosa* Ethanolic Leaf Extract against Ethanol-Induced Gastric Ulcer in Rats. *PLoS One*. 2013;8(5):e64751. doi:10.1371/journal.pone.0064751
25. Kamisah Y, Othman F, Qodriyah HMS, Jaarin K. *Parkia speciosa* Hassk.: A Potential Phytomedicine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013;2013:1-9. doi:10.1155/2013/709028
26. Tsai TT, Chuang YJ, Lin YS, Wan SW, Chen CL, Lin CF. An emerging role for the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 in dengue virus infection. *J Biomed Sci*. 2013;20(1):40. doi:10.1186/1423-0127-20-40
27. Krishnamurthy P, Rajasingh J, Lambers E, Qin G, Losordo DW, Kishore R. IL-10 Inhibits Inflammation and Attenuates Left Ventricular Remodeling After Myocardial Infarction via Activation of STAT3 and Suppression of HuR. *Circ Res*. 2009;104(2). doi:10.1161/CIRCRESAHA.108.188243
28. Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Photoaging: UV radiation-induced inflammation and immunosuppression accelerate the aging process in the skin. *Inflammation Research*. 2022;71(7-8):817-831. doi:10.1007/s00011-022-01598-8
29. 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). doi:10.3390/ijms22083974
30. Lotfi A, Shahryar HA, Ebrahimnezhad Y, Shayegh J. Effect of in ovo ghrelin administration on serum malondialdehyde level in newly-hatched chickens. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2012;2(1):47-49. doi:10.1016/S2221-1691(11)60188-3

31. Morales M, Munné-Bosch S. Malondialdehyde: Facts and Artifacts. *Plant Physiol.* 2019;180(3):1246-1250. doi:10.1104/pp.19.00405
32. Xing X, Dan Y, Xu Z, Xiang L. Implications of Oxidative Stress in the Pathogenesis and Treatment of Hyperpigmentation Disorders. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022. doi:10.1155/2022/7881717
33. Santosa IE, Harmita DANI. *Pengukuran Etilen Hasil Proses Peroksidasi Lipid Pada Biocream Yang Diinduksi Sinar Ultraviolet Menggunakan Detektor Fotoakustik.*; 2020. <https://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/jf/index>
34. C T Pratama GM, Gusti B R M Hartawan IN, Gusti T Indriani IA, et al. *Potensi Ekstrak Spirulina Platensis Sebagai Tabir Surya Terhadap Paparan Ultraviolet B Potency of Spirulina Platensis Extract as Sunscreen on Ultraviolet B Exposure.* Vol 2.; 2020.
35. Ansarin K, Khoubnasabjafari M, Jouyban A. Reliability of malondialdehyde as a biomarker of oxidative stress in psychological disorders. *BioImpacts.* 2017;5(3):123-127. doi:10.15171/bi.2015.20
36. Maurya RP, Prajapat MK, Singh VP, et al. Serum Malondialdehyde as a Biomarker of Oxidative Stress in Patients with Primary Ocular Carcinoma: Impact on Response to Chemotherapy. *Clin Ophthalmol.* 2021;15:871-879. doi:10.2147/OPHTH.S287747
37. Xing X, Dan Y, Xu Z, Xiang L. Implications of Oxidative Stress in the Pathogenesis and Treatment of Hyperpigmentation Disorders. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022:1-12. doi:10.1155/2022/7881717
38. Niu C, Aisa HA. Upregulation of Melanogenesis and Tyrosinase Activity: Potential Agents for Vitiligo. *Molecules.* 2017;22(8):1303. doi:10.3390/molecules22081303

39. Kamiński K, Kazimierczak U, Kolenda T. Oxidative stress in melanogenesis and melanoma development. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2022;26(1):1-7. doi:10.5114/wo.2021.112447
40. Kaminski K, Kazimierczak U, Kolenda T. Oxidative stress in melanogenesis and melanoma development. *Wspolczesna Onkologia*. 2022;26(1):1-7. doi:10.5114/wo.2021.112447
41. García-Gavín J, González-Vilas D, Fernández-Redondo V, Toribio J. Pigmented contact dermatitis due to kojic acid. A paradoxical side effect of a skin lightener. *Contact Dermatitis*. 2010;62(1):63-64. doi:10.1111/j.1600-0536.2009.01673.x
42. Integrated Taxonomic Information System. Taxonomic Hierarchy : *Parkia speciosa* Hassk.
43. Caracuta V, Barzilai O, Khalaily H, et al. The onset of faba bean farming in the Southern Levant. *Sci Rep*. 2015;5(1):14370. doi:10.1038/srep14370
44. Hopkins HCF. The Indo-Pacific Species of *Parkia* (Leguminosae : Mimosoideae). *Kew Bull*. 1994;49(2):181. doi:10.2307/4110261
45. Izzah Ahmad N, Abdul Rahman S, Leong YH, Azizul NH. A Review on the Phytochemicals of *Parkia Speciosa*, Stinky Beans as Potential Phytomedicine. *J Food Sci Nutr Res*. 2019;02(03). doi:10.26502/jfsnr.2642-11000017
46. Chang TS. Natural melanogenesis inhibitors acting through the down-regulation of tyrosinase activity. *Materials*. 2012;5(9):1661-1685. doi:10.3390/ma5091661
47. Ebanks JP, Wickett RR, Boissy RE. Mechanisms regulating skin pigmentation: The rise and fall of complexion coloration. *Int J Mol Sci*. 2009;10(9):4066-4087. doi:10.3390/ijms10094066

48. Samivel R, Nagarajan RP, Subramanian U, et al. Inhibitory Effect of Ursolic Acid on Ultraviolet B Radiation-Induced Oxidative Stress and Proinflammatory Response-Mediated Senescence in Human Skin Dermal Fibroblasts. *Oxid Med Cell Longev.* 2020;2020:1-17. doi:10.1155/2020/1246510
49. Gromkowska- Kępa KJ, Puścion- Jakubik A, Markiewicz- Żukowska R, Socha K. The impact of ultraviolet radiation on skin photoaging — review of in vitro studies. *J Cosmet Dermatol.* 2021;20(11):3427-3431. doi:10.1111/jocd.14033
50. Park HR, Kim JK, Lee JK, Choi BR, Ku SK, Jegal KH. The Protective Effects of Unripe Apple (*Malus pumila*) Extract on Ultraviolet B-Induced Skin Photoaging Mouse Model. *Applied Sciences.* 2023;13(8):4788. doi:10.3390/app13084788
51. Jung J, Choi YJ, Yoo J, Choi SY, Kim E. Antiphotaging Effect of AGEs Blocker™ in UVB-Irradiated Cells and Skh:HR-1 Hairless Mice. *Curr Issues Mol Biol.* 2023;45(5):4181-4199. doi:10.3390/cimb45050266
52. Brenner M, Hearing VJ. The Protective Role of Melanin Against UV Damage in Human Skin†. *Photochem Photobiol.* 2008;84(3):539-549. doi:10.1111/j.1751-1097.2007.00226.x
53. Del Bino S, Duval C, Bernerd F. Clinical and Biological Characterization of Skin Pigmentation Diversity and Its Consequences on UV Impact. *Int J Mol Sci.* 2018;19(9):2668. doi:10.3390/ijms19092668
54. Higuchi M. Antioxidant Properties of Wheat Bran against Oxidative Stress. In: *Wheat and Rice in Disease Prevention and Health.* Elsevier Inc.; 2014:181-199. doi:10.1016/B978-0-12-401716-0.00015-5
55. Addor FAS. Antioxidants in dermatology. *An Bras Dermatol.* 2017;92(3):356-362. doi:10.1590/abd1806-4841.20175697

56. Pandel R, Poljšak B, Godic A, Dahmane R. Skin Photoaging and the Role of Antioxidants in Its Prevention. *ISRN Dermatol.* 2013;2013:1-11. doi:10.1155/2013/930164
57. Zhou Q, Feng C, Ruan Z. Inhibitory effect of a genistein derivative on pigmentation of guinea pig skin. *RSC Adv.* 2017;7(13):7914-7919. doi:10.1039/c6ra27106e
58. Kao YY, Chuang TF, Chao SH, Yang JH, Lin YC, Huang HY. Evaluation of the antioxidant and melanogenesis inhibitory properties of Pracparatum Mungo (Lu-Do Huang). *J Tradit Complement Med.* 2013;3(3):163-170. doi:10.4103/2225-4110.113443
59. Barnes TM, Mijaljica D, Townley JP, Spada F, Harrison IP. Vehicles for Drug Delivery and Cosmetic Moisturizers: Review and Comparison. *Pharmaceutics.* 2021;13(12):2012. doi:10.3390/pharmaceutics13122012
60. Shoma Suresh K, Bhat S, Guru BR, Muttigi MS, Seetharam RN. A nanocomposite hydrogel delivery system for mesenchymal stromal cell secretome. *Stem Cell Res Ther.* 2020;11(1):1-14. doi:10.1186/s13287-020-01712-9
61. Waters R, Alam P, Pacelli S, et al. HHS Public Access. Published online 2019:95-106. doi:10.1016/j.actbio.2017.12.025.Stem
62. Maxey J. AADE-11-NTCE-23 Viscosity and Gel Structure : The Unseen Results of Their Manipulation. 2011;(April 2011).
63. Trostyanskaya YB, Makarova SB, Aptova TA, Murashko IN. Hydrophobic and hydrophilic gels of various permeabilities prepared by copolymerization of styrene with p-divinylbenzene. *Polymer Science USSR.* 1965;7(12):2282-2289. doi:10.1016/0032-3950(65)90161-9
64. Cabral MES, Ramos AN, Macedo AJ, et al. Formulation and quality control of semi-solid containing harmless bacteria by-products: Chronic

- wounds pro-healing activity. *Pharm Dev Technol.* 2015;20(8):911-918. doi:10.3109/10837450.2014.938858
65. Chhikara N, Devi HR, Jaglan S, Sharma P, Gupta P, Panghal A. Bioactive compounds, food applications and health benefits of *Parkia speciosa* (stinky beans): a review. *Agric Food Secur.* 2018;7(1):46. doi:10.1186/s40066-018-0197-x
66. Dale Wilson B, Moon S, Armstrong F. Comprehensive review of ultraviolet radiation and the current status on sunscreens. *J Clin Aesthet Dermatol.* 2012;5(9):18-23.
67. Zaini N, Mustaffa F. Review: *Parkia speciosa* as Valuable, Miracle of Nature. *Asian Journal of Medicine and Health.* 2017;2(3):1-9. doi:10.9734/AJMAH/2017/30997
68. Tapas A, Sakarkar D, Kakde R. Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* 2008;7(3). doi:10.4314/tjpr.v7i3.14693
69. Hughes MCB, Williams GM, Pigeon H, Fourtanier A, Green AC. Dietary Antioxidant Capacity and Skin Photoaging: A 15-Year Longitudinal Study. *Journal of Investigative Dermatology.* 2021;141(4):1111-1118.e2. doi:10.1016/j.jid.2020.06.026
70. L. Suraweera T, Rupasinghe HPV, Delleire G, Xu Z. Regulation of Nrf2/ARE Pathway by Dietary Flavonoids: A Friend or Foe for Cancer Management? *Antioxidants.* 2020;9(10):973. doi:10.3390/antiox9100973
71. Al-Khayri JM, Sahana GR, Nagella P, Joseph B V., Alessa FM, Al-Mssallem MQ. Flavonoids as Potential Anti-Inflammatory Molecules: A Review. *Molecules.* 2022;27(9):2901. doi:10.3390/molecules27092901
72. Son DJ, Jung JC, Choi YM, Ryu HY, Lee S, Davis BA. Wheat Extract Oil (WEO) Attenuates UVB-Induced Photoaging via Collagen Synthesis in

- Human Keratinocytes and Hairless Mice. *Nutrients*. 2020;12(2):300. doi:10.3390/nu12020300
73. Baumann D, Drebant J, Hägele T, et al. P38 MAPK signaling in M1 macrophages results in selective elimination of M2 macrophages by MEK inhibition. *J Immunother Cancer*. 2021;9(7). doi:10.1136/jitc-2020-002319
74. Liu YC, Zou XB, Chai YF, Yao YM. Macrophage polarization in inflammatory diseases. *Int J Biol Sci*. 2014;10(5):520-529. doi:10.7150/ijbs.8879
75. Wang N, Liang H, Zen K. Molecular mechanisms that influence the macrophage M1-M2 polarization balance. *Front Immunol*. 2014;5(NOV). doi:10.3389/fimmu.2014.00614
76. Miki S, Suzuki J ichiro, Takashima M, Ishida M, Kokubo H, Yoshizumi M. S-1-Propenylcysteine promotes IL-10-induced M2c macrophage polarization through prolonged activation of IL-10R/STAT3 signaling. *Sci Rep*. 2021;11(1). doi:10.1038/s41598-021-01866-3
77. Li H, Jiang N, Liang B, et al. Pterostilbene protects against UVB-induced photo-damage through a phosphatidylinositol-3-kinase-dependent Nrf2/ARE pathway in human keratinocytes. *Redox Report*. 2017;22(6):501-507. doi:10.1080/13510002.2017.1329917
78. Kalajian TA, Aldoukhi A, Veronikis AJ, Persons K, Holick MF. Ultraviolet B Light Emitting Diodes (LEDs) Are More Efficient and Effective in Producing Vitamin D3 in Human Skin Compared to Natural Sunlight. *Sci Rep*. 2017;7(1). doi:10.1038/s41598-017-11362-2
79. You YJ, Wu PY, Liu YJ, et al. Sesamol inhibited ultraviolet radiation-induced hyperpigmentation and damage in C57BL/6 mouse skin. *Antioxidants*. 2019;8(7):1-16. doi:10.3390/antiox8070207

80. Sayama K, Yuki K, Sugata K, et al. Carbon dioxide inhibits UVB-induced inflammatory response by activating the proton-sensing receptor, GPR65, in human keratinocytes. *Sci Rep.* 2021;11(1). doi:10.1038/s41598-020-79519-0
81. Subedi L, Lee TH, Wahedi HM, Baek SH, Kim SY. Resveratrol-Enriched Rice Attenuates UVB-ROS-Induced Skin Aging via Downregulation of Inflammatory Cascades. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017. doi:10.1155/2017/8379539
82. Wölfle U, Esser PR, Simon-Haarhaus B, Martin SF, Lademann J, Schempp CM. UVB-induced DNA damage, generation of reactive oxygen species, and inflammation are effectively attenuated by the flavonoid luteolin in vitro and in vivo. *Free Radic Biol Med.* 2011;50(9):1081-1093. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2011.01.027
83. Wu PY, Lyu JL, Liu YJ, et al. Fisetin regulates Nrf2 expression and the inflammation-related signaling pathway to prevent UVB-induced skin damage in hairless mice. *Int J Mol Sci.* 2017;18(10). doi:10.3390/ijms18102118
84. D'Orazio J, Jarrett S, Amaro-Ortiz A, Scott T. UV radiation and the skin. *Int J Mol Sci.* 2013;14(6):12222-12248. doi:10.3390/ijms140612222
85. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: An overview. *J Nutr Sci.* 2016;5. doi:10.1017/jns.2016.41
86. Veeramuthu D, Raja WRT, Al-Dhabi NA, Savarimuthu I. Flavonoids: Anticancer Properties. *Flavonoids - From Biosynthesis to Human Health.* Published online 2017. doi:10.5772/68095
87. Zaidun NH, Thent ZC, Latiff AA. Combating oxidative stress disorders with citrus flavonoid: Naringenin. *Life Sci.* 2018;208(June):111-122. doi:10.1016/j.lfs.2018.07.017

88. Banjarnahor SDS, Artanti N. Antioxidant properties of flavonoids. *Medical Journal of Indonesia*. 2014;23(4):239-244. doi:10.13181/mji.v23i4.1015
89. Kim HY, Sah SK, Choi SS, Kim TY. Inhibitory effects of extracellular superoxide dismutase on ultraviolet B-induced melanogenesis in murine skin and melanocytes. *Life Sci*. 2018;210:201-208. doi:10.1016/J.LFS.2018.08.056
90. Wang CQF, Akalu YT, Suarez-Farinas M, et al. IL-17 and TNF synergistically modulate cytokine expression while suppressing melanogenesis: Potential relevance to psoriasis. *Journal of Investigative Dermatology*. 2013;133(12):2741-2752. doi:10.1038/jid.2013.237
91. Venza I, Venza M, Visalli M, Lentini G, Teti D, D'Alcontres FS. ROS as Regulators of Cellular Processes in Melanoma. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021. doi:10.1155/2021/1208690
92. Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*. 2010;15(10):7313-7352. doi:10.3390/molecules15107313
93. Fachriyah E, Kusriani D, Haryanto IB, Wulandari SMB, Lestari WI, Sumariyah S. Phytochemical Test, Determination of Total Phenol, Total Flavonoids and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Moringa Leaves (*Moringa oleifera* Lam). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 2020;23(8):290-294. doi:10.14710/jksa.23.8.290-294
94. Ramli S, Ruangrunsi N. *Tyrosinase Inhibition, Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Selected Mimosaceae Pericarps Ethanolic Extracts*. Vol 4.; 2021.
95. Zullaikah S, Naulina RY, Meinawati P, et al. Enhanced Extraction of Phenolic Compounds from *Moringa Oleifera* Leaves Using Subcritical Water Ethanol Mixture. *IOP Conf Ser Mater Sci Eng*. 2019;543(1). doi:10.1088/1757-899X/543/1/012021

96. Foti MC. Antioxidant properties of phenols. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2007;59(12):1673-1685. doi:10.1211/jpp.59.12.0010
97. Sharma K, Mahato N, Lee YR. Extraction, characterization and biological activity of citrus flavonoids. *Reviews in Chemical Engineering*. 2019;35(2):265-284. doi:10.1515/revce-2017-0027
98. Makasana J, Dholakiya BZ, Gajbhiye NA, Raju S. Extractive determination of bioactive flavonoids from butterfly pea (*Clitoria ternatea* Linn.). *Research on Chemical Intermediates*. 2017;43(2):783-799. doi:10.1007/s11164-016-2664-y
99. Hao J, Lou P, Han Y, et al. Ultraviolet-B Irradiation Increases Antioxidant Capacity of Pakchoi (*Brassica rapa* L.) by Inducing Flavonoid Biosynthesis. *Plants*. 2022;11(6). doi:10.3390/plants11060766
100. Liu J, Han X, Zhang T, Tian K, Li Z, Luo F. Reactive oxygen species (ROS) scavenging biomaterials for anti-inflammatory diseases: from mechanism to therapy. *J Hematol Oncol*. 2023;16(1). doi:10.1186/s13045-023-01512-7
101. Abdollahi N, Nadjarzadeh A, Salehi-Abargouei A, et al. The effect of *Nigella sativa* on TAC and MDA in obese and overweight women: secondary analysis of a crossover, double blind, randomized clinical trial. *J Diabetes Metab Disord*. 2022;21(1):171-179. doi:10.1007/s40200-021-00954-5
102. Lancellotti P, Oury C. IL-10 targets myofibroblasts and dampens cardiac fibrosis. *J Public Health Emerg*. Published online 2017. doi:10.21037/jphe.2017.10.03
103. Jung M, Ma Y, Iyer RP, et al. IL-10 improves cardiac remodeling after myocardial infarction by stimulating M2 macrophage polarization and fibroblast activation. *Basic Res Cardiol*. 2017;112(3):1-14. doi:10.1007/s00395-017-0622-5

104. Eichner A, Hänsel M, Domino KB, Hübler M. Mechanisms regulating melanogenesis. *Complications and Mishaps in Anesthesia: Cases - Analysis - Preventive Strategies*. 2014;9783642454(1):233-242. doi:10.1007/978-3-642-45407-3_24
105. Kim HY, Sah SK, Choi SS, Kim TY. Inhibitory effects of extracellular superoxide dismutase on ultraviolet B-induced melanogenesis in murine skin and melanocytes. *Life Sci*. 2018;210:201-208. doi:10.1016/j.lfs.2018.08.056
106. Ko HJ, Ang LH, Ng LT. Antioxidant activities and polyphenolic constituents of bitter bean *Parkia speciosa*. *Int J Food Prop*. 2014;17(9):1977-1986. doi:10.1080/10942912.2013.775152
107. Hao J hong S, Shan G, Cai SW xia. Protection against TGF- b 1-induced fibrosis effects of IL-10 on dermal fibroblasts and its potential therapeutics for the reduction of skin scarring. Published online 2013:341-352. doi:10.1007/s00403-013-1314-0
108. Hearing VJ. Determination of melanin synthetic pathways. *J Invest Dermatol*. 2011;131(E1). doi:10.1038/skinbio.2011.4
109. Kobayashi T, Urabe K, Winder A, et al. Tyrosinase related protein 1 (TRP1) functions as a DHICA oxidase in melanin biosynthesis. *EMBO Journal*. 1994;13(24):5818-5825. doi:10.1002/j.1460-2075.1994.tb06925.x
110. Nishioka E, Funasaka Y, Kondoh H, Chakraborty AK, Mishima Y, Ichihashi M. Expression of tyrosinase, TRP-1 and TRP-2 in ultraviolet-irradiated human melanomas and melanocytes: TRP-2 protects melanoma cells from ultraviolet B induced apoptosis. *Melanoma Res*. 1999;9(5):433-443. doi:10.1097/00008390-199910000-00002
111. Kim SS, Kim MJ, Choi YH, et al. Down-regulation of tyrosinase, TRP-1, TRP-2 and MITF expressions by citrus press-cakes in murine B16 F10

melanoma. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2013;3(8):617-622.
doi:10.1016/S2221-1691(13)60125-2

