

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SAWO
TERHADAP KADAR IL-6 DAN TGF- β JARINGAN
KULIT**

**(Studi eksperimental pada tikus putih jantan galur wistar
yang dipapar sinar UV)**

Tesis

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat
Magister (S2)**



Magister Ilmu Biomedik

Amalia Safitri

MBK. 2219010271

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

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SAWO
TERHADAP KADAR IL-6 DAN TGF- β JARINGAN
KULIT**

(Studi eksperimental pada tikus putih jantan galur wistar
yang dipapar sinar UV-B)

Disusun oleh
Amalia Safitri
MBK.22.19.010271

Pembimbing 1
Menyetujui.

Pembimbing 2

Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes.

Dr. dr. Danis Pertiwi M.Si. Med,Sp.PK

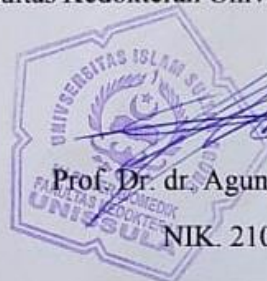
NIK. 210101059

NIK. 210199051

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung



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

NIK. 210.199.050

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya 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, Januari 2024

Yang menyatakan



Amalia Safitri



KATA PENGANTAR

Segala Puji atas ke hadirat Allah SWT atas Rahmat, Nikmat dan Taufiknya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SAWO TERHADAP KADAR IL-6 DAN TGF- β JARINGAN KULIT pada tikus putih jantan galur wistar yang dipapar sinar UV”. Tesis ini diajukan sebagai bagian dari tugas akhir menyelesaikan studi di Program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Dalam penyelesaian laporan tesis, penulis banyak mendapatkan bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada

1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH., M. Hum selaku rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang beserta para wakil rektor yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menempuh dan menyelesaikan pendidikan Magister Ilmu Biomedik.
2. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H. Sp. KF selaku dekan Fakultas Kedokteran UNISSULA sekaligus penguji yang banyak memberikan arahan dan saran untuk penulis menyelesaikan laporan tesis.
3. Prof. Dr. dr H. Agung Putra., M.Si., Med selaku ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik dan selaku penguji yang telah memberikan kiritk serta saran dalam penyusunan hasil tesis
4. Dr. dr Hadi Sarosa, M. Kes selaku pembimbing I yang banyak memberikan arahan dan semangat sehingga dapat menyelesaikan laporan tesis
5. Dr. dr. Danis Pertiwi M.Si. Med,Sp.PK selaku pembimbing II yang telah membimbing dengan segenap ilmu, waktu, tenaga dalam menyelesaikan tesis ini.

6. Dr. Dra Atina Husaana, M. Si, Apt, selaku penguji yang telah bersedia menilai dan memberi masukan kepada penulis.
7. Semua pihak yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

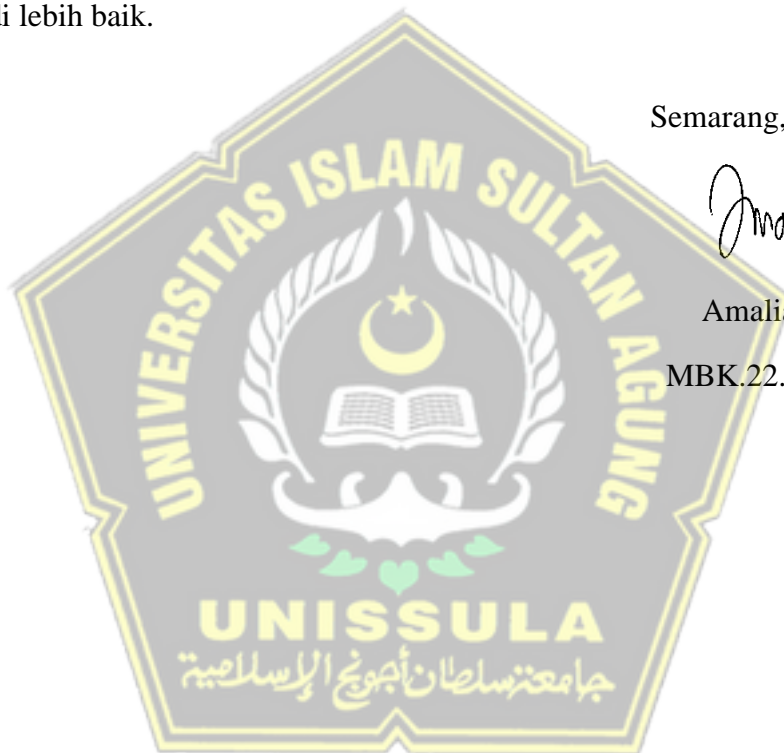
Akhirnya penulis menyadari masih banyak kekurangan dan kelemahan. Untuk itu saran dan masukannya akan sangat membantu agar laporan tesis ini dapat menjadi lebih baik.

Semarang, Januari 2024



Amalia Safitri

MBK.22.19.010271



ABSTRAK

Latar Belakang: Paparan sinar ultraviolet berlebihan mempengaruhi homeostatis sel dan jaringan yang memberikan efek merusak DNA yang ditandai dengan pembentukan *spesies oksigen reaktif* (ROS). Inflamasi karena sinar UV merupakan penyebab utama stres oksidatif pada kulit. Penyembuhan luka yang di sebabkan oleh *sunburn* melalui proses yang kompleks yang terdiri dari infiltrasi sel inflamasi, proliferasi sel, dan fase *remodeling* jaringan untuk membuat normal kembali integritas dan fungsi kulit, penyembuhan yang cepat dan epitelisasi untuk mencegah infeksi dan meminimalkan komplikasi fungsional dan estetika. peneliti bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian cream ekstrak daun sawo (*Manilkara zapota*) terhadap kadar IL-6 dan TGF- β pada tikus wistar dengan kondisi *sunburn*.

Metode: Study eksperiment dengan *design posh test only control group* menggunakan jumlah hewan coba sebanyak 30 ekor tikus, dibagi secara random menjadi 4 kelompok perlakuan terdiri atas kelompok kontrol, kelompok placebo, kelompok *cream* daun sawo dosis 25% dan kelompok *cream* 50%. Jaringan kulit tikus yang terpapar UV dianalisis menggunakan metode ELISA untuk menentukan kadar IL-6 dan TGF- β .

Hasil: Tidak terdapat perbedaan yang signifikan rata-rata kadar IL-6 antar kelompok perlakuan dengan uji beda *One way Anova* didapatkan nilai *p value* 0,25 ($p < 0,05$), terdapat perbedaan yang bermakna rata-rata kadar TGF- β tiap kelompok dengan nilai *p value* 0,005 ($P < 0,05$), cream ekstrak daun *Manilkara zapota* memberikan pengaruh signifikan terhadap kadar TGF- β pada dosis 50%.

Kesimpulan: Pemberian *cream* ekstrak daun sawo memberikan pengaruh yang bergantung pada dosis terhadap kadar IL-6 dan TGF- β pada jaringan kulit tikus yang terpapar UV.

Kata Kunci: *Cream* ekstrak kulit sawo, IL-6, TGF- β , UV

ABSTRACT

Background: Excessive exposure to ultraviolet light affects cell and tissue homeostasis which has a damaging effect on DNA characterized by the formation of reactive oxygen species (ROS). Inflammation due to UV rays is the main cause of oxidative stress in the skin. Healing of wounds caused by sunburn through a complex process consisting of inflammatory cell infiltration, cell proliferation, and tissue remodeling phases to restore normal skin integrity and function, rapid healing and epithelialization to prevent infection and minimize functional and aesthetic complications. The researchers aimed to see the effect of administering sapodilla leaf extract cream (*Manilkara zapota*) on IL-6 and TGF- β levels in Wistar rats with sunburn.

Method: Experimental study with a post test only control group design using a total of 30 mice as experimental animals, divided randomly into 4 treatment groups consisting of a control group, a placebo group, a sapodilla leaf cream group with a dose of 25% and a 50% cream group. Mouse skin tissue exposed to UV was analyzed using the ELISA method to determine the levels of IL-6 and TGF- β .

Results: There was no significant difference in the average IL-6 levels between treatment groups with the one way anova difference test, a p value of 0.25 ($p < 0.05$), there was a significant difference in the average TGF- β levels for each group with a p value of 0.005 ($P < 0.05$), *Manilkara zapota* leaf extract cream had a significant effect on TGF- β levels at a dose of 50%.

Conclusion: Administration of *Manilkara zapota* leaf extract cream has a dose-dependent effect on IL-6 and TGF- β levels in skin tissue of mice exposed to UV.

Keywords: *Manilkara zapota* extract cream, IL-6, TGF- β , UV

DAFTAR ISI

	Halaman
TESIS	ii
PERNYATAAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
RIWAYAT HIDUP.....	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR SINGKATAN	xiv
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	iv
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
<i>1.3.1 Tujuan Umum</i>	<i>3</i>
<i>1.3.2. Tujuan Khusus</i>	<i>4</i>
1.4. Originalitas penelitian	4

1.5. Manfaat Penelitian	7
1.5.1. <i>Manfaat Teoritis</i>	7
1.5.2. <i>Manfaat Praktis</i>	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1. Sunburn	8
2.1.1. <i>Definisi.....</i>	8
2.1.2. <i>Epidemiologi.....</i>	8
2.1.3. <i>Etiologi</i>	9
2.1.4. <i>Patogenesis.....</i>	11
2.1.5. <i>Diagnosis.....</i>	13
2.2. Transforming Growth Factor (TGF-β).....	13
2.2.1. <i>Pengertian</i>	13
2.2.2. <i>Sifat Aktifitas TGF-β.....</i>	14
2.2.3. <i>TGF-β dalam mengendalikan Proses Sunburn</i>	17
2.3. Interleukin 6.....	18
2.3.1 <i>Pengertian</i>	18
2.3.2. <i>Sifat Aktifitas Interleukin 6 (IL-6)</i>	19
2.3.4. <i>Peran IL-6 dalam mengendalikan proses Sunburn</i>	20
2.4. Daun Sawo (Manilkara zapota L.P Royen)	21
2.4.1. <i>Tinjauan Tentang Sawo Manila (Manilkara zapota)</i>	21

2.4.2. <i>Klasifikasi Tanaman</i>	22
2.4.3. <i>Morfologi Tanaman</i>	23
2.4.4. <i>Ekologi dan Penyebaran</i>	23
2.4.5. <i>Manfaat dan Aktifitas Biologi</i>	24
2.4.6. <i>Kandungan Kimia Tanaman</i>	25
2.4.7. <i>Manfaat Secara Medis</i>	25
2.5. Hubungan Daun Sawo dengan IL-6 dan TGF-β	26
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	28
3.1. Kerangka Teori	28
3.2. Kerangka Konsep	31
3.3. Hipotesis	31
BAB IV METODE PENELITIAN	32
4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	32
4.2. Populasi dan Sampel Penelitian	33
4.2.1. <i>Pemilihan Sampel</i>	33
4.2.2. <i>Besar Sampel</i>	34
4.2.3. <i>Teknik Sampling</i>	35
4.3. Variabel dan Definisi Operasional	35
4.3.1. <i>Variabel Penelitian</i>	35
4.3.2. <i>Definisi Operasional</i>	36

4.3.3. <i>Bahan/Materi Penelitian</i>	36
4.4. Peralatan	37
4.5. Alur Penelitian	37
4.5.1. <i>Perolehan Ethical Clearance</i>	37
4.5.2. <i>Cara Kerja Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Manilkara zapota</i>	37
4.5.3. <i>Perlakuan pada Hewan Coba</i>	39
4.6. Tempat dan Waktu Penelitian	39
4.6.1. <i>Tempat Penelitian</i>	39
4.6.2. <i>Waktu Penelitian</i>	39
4.7. Alur Penelitian	40
4.8. Analisis Data	41
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	42
5.1 Hasil Penelitian	42
5.1.1 <i>Hasil analisis kadar flavonoid dan total fenol ekstrak daun sawo</i>	42
5.1.2 <i>Hasil validasi pewarnaan Hematoxilin eosin (HE) jaringan kulit tikus yang mengalami sunburn</i>	43
5.1.3 <i>Hasil pemeriksaan Kadar IL-6 pada tikus yang dipapar UVB</i>	44
5.1.4 <i>Hasil pemeriksaan Kadar TGF-β pada tikus yang dipapar UVB</i>	46
5.2 Pembahasan	48
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	51

6.1. Kesimpulan	51
6.2. Saran.....	51
DAFTAR PUSTAKA	52
1. Lampiran uji statistik	55
2. Hasil analisis kadar flavonoid dan total phenol ekstrak daun sawo ..	59
3. Dokumentasi penelitian	62



DAFTAR SINGKATAN

UV : Ultraviolet

IL-4 : *Interleukin 4*

IL-6 : *Interleukin 6*

IL-10 : *Interleukin 10*

IL-13 : *Interleukin 13*

TNF- α : *Tumor Necrosis Factor Alpha*

TNF- β : *Tumor Necrosis Factor Beta*

ROS : *Reactive Oxygen Spesies*

NF- κ B : *Nuclear Factor Kappa B*

FST : *Fitzpatrick*

TLR : *Toll Like Reseptor*

TIR : *Toll IL-1 Reseptor*

DAMP : *Damage-Associated Molecular Patterns*

WHO : *World Health Organization*

DNA : *Deoxy Nucleat*

SAA : *Serum Amiloid A*

CRP : *Protein C – Reaktif*

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian.....	4
Tabel 5.1 Hasil uji deskriptif dan <i>One way Anova</i> kadar IL-6.....	44
Tabel 5.2 Hasil uji deskriptif dan <i>One way Anova</i> kadar TGF- β	46
Tabel 5.3 Hasil uji <i>Post Hoc Tests</i> kadar TGF- β	47



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 kerusakan utama dari radiasi UV.	11
Gambar 2.2 Jalur peradangan persinyalan yang diinduksi oleh radiasi ultraviolet yang terkait dengan perkembangan kanker.	12
Gambar 2.3 Peran pengaturan sinyal TGF- β	16
Gambar 2.4 Mekanisme aktivasi IL-6.	20
Gambar 2.5 Buah Manilkara zapota (L.) P. Royen (Hartati et al, 2013)	22
Gambar 3.1 Kerangka teori	30
Gambar 3.2 Kerangka konsep	31
Gambar 4.1 Desain penelitian.....	32
Gambar 4.2 Alur penelitian.....	40
Gambar 5.1 Hasil pewarnaan H&E kelompok perlakuan dengan perbesaran 40x.	43
Gambar 5.2 Hasil pewarnaan H&E kelompok kontrol dengan perbesaran 40x	44
Gambar 5.3 Grafik rata-rata kadar IL-6 antar kelompok	45
Gambar 5.4 Grafik rata-rata kadar TGF- β antar kelompok perlakuan.....	47
Gambar 5.5 Grafik rata-rata kadar TGF- β antar kelompok	47

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Paparan sinar ultraviolet pada manusia yang berlebihan dapat menyebabkan masalah kesehatan. Sinar UV mempengaruhi homeostatis sel dan jaringan yang memberikan efek merusak DNA yang ditandai dengan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS). ROS meningkatkan peroksidasi komponen lipid membran sel, mengubah struktur dan meningkatkan oksidasi sehingga menimbulkan stres oksidatif. Inflamasi karena sinar UV ialah penyebab utama dari stres oksidatif yang ada pada kulit.¹ Inflamasi akut berhubungan dengan sel *T helper* (Th) 1, mengaktifasi sinyal *transforming growth factor beta* (TGF- β) dan berkontribusi terhadap degradasi kolagen, menyebabkan mutasi gen dan ketidakstabilan genom.¹¹ Kemampuan melawan stres oksidatif menurun, mengakibatkan peningkatan *Interleukin 6* (IL-6), berperan sebagai mediator pro-inflamasi yang dilepaskan pada saat terjadi inflamasi. Blokade pensinyalan IL-6 telah terbukti efektif dalam mengobati kondisi yang ditandai dengan peradangan kronis.⁸ Ekstrak daun sawo memiliki kandungan flavonoid yang sangat signifikan diketahui memiliki efek antiinflamasi.⁹

Indonesia adalah negara yang berlokasi di garis khatulistiwa, dengan kondisi iklim tropis dan juga terik sinar matahari maupun tingkat kelembaban yang cukup terbilang tinggi. *Sunburn* disebabkan oleh paparan sinar UV matahari yang berlebihan.¹⁰ Paparan sinar matahari yang berlebihan menghadirkan risiko dan efek samping bagi kesehatan manusia. Menurut *World Health Organization* (WHO),

diperkirakan sekitar 11 juta orang setiap tahun mengalami sunburn.¹¹ Radiasi matahari menjadi faktor risiko lingkungan yang paling penting untuk kanker kulit, penyebab utama *photoaging*, dan juga faktor eksaserbasi untuk beberapa dermatosis.¹² Data klinis dan epidemiologi menghubungkan intensitas paparan sinar matahari kumulatif dan jumlah sengatan matahari terhadap kerusakan kulit.¹³ Peningkatan dari jumlah sengatan matahari yang dialami memiliki korelasi secara langsung dengan peningkatannya risiko dari kanker kulit.¹⁰ Angka kejadian penyakit kanker yang ada di negara Indonesia (136.2/100.000 penduduk) dengan posisi yang ada di urutan nomor 8 di Asia Tenggara, sedangkan di Asia urutannya ke posisi 23. Perkembangan obat tradisional saat ini sangat meningkat hingga penggunaan dari obat tradisional jauh lebih digemari serta memiliki harga yang pastinya jauh lebih terjangkau, dan efek samping yang ditimbulkan juga tidaklah membahayakan kehidupan.

Penyembuhan luka yang disebabkan oleh *sunburn* melalui proses yang kompleks yang terdiri dari infiltrasi sel inflamasi, proliferasi sel, dan fase *remodeling* jaringan untuk membuat normal kembali integritas dan fungsi kulit. Ekstrak daun sawo dapat mengakibatkan penurunan IL-6 dan peningkatan produksi TGF- β .¹⁴ Sawo baru-baru ini terbukti memicu apoptosis di berbagai jalur sel dengan mengaktifkan jalur mitokondria. Daun sawo manila memiliki kandungan bahan senyawa fitokimia flavonoid, alkaloid, tannin terpenoid, saponin, maupun glikosida. flavonoid dapat menghambat pembentukan asam arachidonate dan sekresi enzim lisosom serta endothelial hingga proliferasi maupun eksudasi dari tahapan radang mengalami hambatan.⁹

Tujuan akhir dari penatalaksanaan dan pengobatan akibat sunburn adalah penyembuhan yang cepat dan epitelisasi untuk mencegah infeksi dan meminimalkan komplikasi fungsional dan estetika.¹⁵ Perawatan luka yang tepat menghasilkan keberhasilan terapi.¹¹ Senyawa alami telah digunakan selama ribuan tahun untuk mengobati luka. Senyawa alami ditemukan di banyak tumbuhan dan hewan yang merupakan sumber yang banyak tersedia untuk perawatan luka termasuk pada perawatan luka bakar akibat paparan sinar matahari.¹⁶ Daun Sawo *Manilkara zapota* (L.) merupakan tanaman dari keluarga Sapotaceae banyak dibudidayakan di seluruh dunia tropis. Ekstrak dari *Manilkara zapota* (L.) diketahui memiliki kandungan antioksidan tinggi yang berpotensi untuk digunakan sebagai terapi alami dalam penyembuhan luka.¹⁷ Oleh karena itu peneliti bermaksud untuk meneliti pengaruh pemberian ekstrak daun sawo pada kadar IL-6 dan TGF- β yang ada pada tikus wistar yang diinduksi UV.

1.2. Perumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun sawo (*Manilkara zapota* L.P Royen) terhadap kadar Interleukin 6 (IL-6) dan TGF- β jaringan kulit tikus putih jantan galur wistar yang dipapar UV?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sawo (*Manilkara zapota* L.P Royen) terhadap kadar IL-6 dan TGF- β pada tikus putih jantan galur wistar yang dipapar UV.

1.3.2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui pemberian ekstrak daun sawo (*Manilkara zapota L.P Royen*) terhadap kadar TGF- β pada tikus Jantan galur Wistar dengan dipapar UV antar kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol.
- b. Mengetahui pemberian ekstrak daun sawo (*Manilkara zapota L.P Royen*) terhadap kadar IL-6 pada tikus Jantan galur Wistar dengan dipapar UV antar kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

1.4. Originalitas penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

Peneliti	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian
Dallan Barayan et al. 2022	Interleuki-6 blockade, a potential adjunct therapy for post-burn hypermetabolism	Aktivitas anti-inflamasi dievaluasi dengan metode blokade reseptor IL-6 mengurangi pembentukan adiposit belge yang diinduksi luka bakar dan lipolisis	Penghambatan persinyalan IL-6 melalui anti-IL-6 memiliki efek baik untuk beberapa organ untuk menipiskan perubahan patologis yang disebabkan hipermetabolisme pasca luka bakar.
Ganguly et al. 2013	In-vivo anti-inflammatory and anti-pyretic activities of <i>Manilkara zapota</i> leaves in albino Wistar rats	Aktivitas anti-inflamasi dievaluasi dengan metode edema kaki yang diinduksi karagenan; potensi anti-piretik ditentukan dengan metode pireksia yang diinduksi ragi pada tikus albino Wistar.	Temuan penelitian menunjukkan aktivitas antiinflamasi dan antipiretik daun <i>Manilkara zapota</i> yang bisa menjadi pilihan terapi melawan penyakit inflamasi dan demam.
Imran Khan	Accelerated burn	Luka bakar dan	Mengoptimalkan

et al 2021	wound healing with photobiomodulation therapy involves activation of endogenous latent TGF- β 1	tikus dikumpulkan dalam buffer RLT (berisi B-ME) dan jaringan dihomogenkan dan disentrifugasi	protocol pengobatan luka bakar untuk meningkatkan penyembuhan luka bakar.
L.R Lockett-Chastain 2009	Interleukin (IL)-6 modulates transforming growth factor- β expression in skin and dermal fibroblasts from IL-6 deficient mice	Fibroblast-populated lattice medel dan injeksi IL-6 intradermal ke tikus IL-6 yang tidak terluka digunakan untuk menyelidiki efek langsung pengobatan IL6 dan TGF- β	Induksi signifikan mRNA dan protein TGI-41 dengan ekspresi TGF-01 terlokalisasi di dermis, sedangkan ekspresi mRNA TGF- β ada di epidermis.
Ramos A, et al 2022	Antioxidant and Anticancer Activities of Manilkara zapota and Lansium domesticum Leaves Coupled with Metabolomics analysis using Molecular Networking.	Daun <i>M. zapota</i> dikeringkan selama 3 hari dan kemudian diekstrak menggunakan heksan, etil asetat, dan methanol. Bagian dari ekstrak daun kemudian melalui prosedur pembersihan yaitu ekstraksi <i>solid-phase</i> menggunakan resin poliamida untuk menghilangkan tannin dan ekstraksi cairan- cairan menggunakan heksan untuk menghilangkan klorofil. Selanjutnya ekstrak daun diskroning untuk melihat aktivitas antioksidan dan antikanker.	Ekstrak daun <i>M. Zapota</i> diketahui memiliki aktivitas antioksidan 3.523 ± 0.382 mmol <i>trolox equivalent</i> /gram. Terdapat pengurangan aktivitas antioksidan dan antikanker pada ekstrak. Analisis fotokimia memperlihatkan <i>M. Zapota</i> memiliki kandungan flavonoid, steroid, glikosida, antrakuinon, antron, kumarin, fenol, dan tanin. Fenol yang diekstraksi dari tumbuhan merupakan antioksidan yang dapat melakukan terminasi radikal bebas.

Mohd Tamsir N, et al 2020	Manilkara zapota (L.) P. Royen: Potential source of natural antioxidants.	Evaluasi antioksidan <i>in vitro</i> seperti <i>content of total phenolic (TPC)</i> , <i>total flavonoids (TFC)</i> , dan aktivitas <i>scavenging</i> DPPH daridaun, benih, buah, dan kulit <i>M. zapota</i> . Identifikasi fotokonstituen menggunakan cairan kromatografi <i>mass spectrometry</i> dilakukan pada komponen dengan pointertinggi dalam hal evaluasi <i>in vitro</i> .	Daun <i>M. Zapota</i> memiliki kapasitas fenol total, kapasitas flavonoid, dan kapasitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan bagian tumbuhan yang lainnya. Hal ini dapat dikarenakan paparan ultraviolet yang tinggi pada daun. Proporsi flavonoid yang lebih tinggi ditemukan pada daun yang berada di wilayah tropis dibandingkan kondisi dingin akibat tingginya radiasi UV yang didapatkan
Kiranmayi GVN, et al 2022	<i>Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Properties of Manilkara zapota L. (Chiku) Leaves by Sequential Soxhlet Extraction Method</i>	Aktivitas antioksidan <i>in vitro</i> dievaluasi menggunakan parameter radikal bebas aktivitas <i>scavenging</i> AS menggunakan radikal hidroksil <i>assay</i> , fosfor molibdenum antioksidan <i>assay</i> , aktivitas <i>scavenging</i> NO, dan H ₂ O ₂ <i>scavenging assay</i> . Tesrenang paksa, tes	Nilai IC ₅₀ hidrogen peroksida dan hidroksil <i>scavenging</i> radikal ditemukan sebesar 24,5 dan 81,28ug/ml untuk ekstrak dan 7,94 dan 40,7 ug/ml untuk AA. Ekstrak daun menunjukkan penurunan imobilitas yang signifikan (P<0,01) pada suspensi ekor dan model depresi

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1. Manfaat Teoritis

Hasil dari riset ini diharap untuk bisa memberi tambahan teori tentang pengaruh dari pemberiannya ekstrak daun sawo (*Manilkara zapota L.P Royen*) pada kadar Interleukin 6 (IL-6) serta juga kadar TGF- β yang ada pada jaringan kulit tikus jantan galur wistar yang dipapar radiasi Ultraviolet

1.5.2. Manfaat Praktis

Hasil dari riset ini diharap untuk bisa memberi informasi pada para penduduk maupun masyarakat mengenai efek dari adanya penggunaan ekstrak daun sawo (*Manilkara zapota L. P Royen*) yang bisa memberi perlindungan pada kulit dari pengaruh kerusakan akibat dari adanya paparan sinar UV hingga ekstrak dari daun sawo (*Manilkara zapota L. P Royen*) dapat dimanfaatkan untuk sunburn.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sunburn

2.1.1. Definisi

Sunburn ialah luka bakar radiasi yang ada pada kulit yang disebabkan oleh terlalu banyak terkena paparan dari sinar ultraviolet (UV) matahari maupun sumber buatan seperti halnya tanning bed. Faktor risiko yang paling besar teruntuk sengatan dari sinar matahari ini ialah jumlah waktu kulit disaat terpapar sinarnya, ditambahnya juga dengan intensitas yang diberikan. Banyak sekali faktor seperti halnya obat-obatan, waktu, ketinggian, penipisan ozon, langit cerah, serta fototipe kulit mempengaruhi sengatan dari sinar matahari. Peningkatan dari jumlah sengatannya matahari yang diperoleh oleh seseorang berhubungan secara langsung pada peningkatan risiko kanker kulit. Sunburn, yang disebabkan oleh paparan sinar UV yang berlebih ialah faktor risiko melanoma.¹⁸

2.1.2. Epidemiologi

Menurut studi *cross-sectional* yang menggunakan sampel perwakilan nasional dari 31.162 orang dewasa Amerika Serikat dari Survei Wawancara Kesehatan Nasional 2015, 34% responden melaporkan mengalami setidaknya 1 sengatan matahari pada tahun 2015. Prevalensi tertinggi di antara tipe kulit Fitzpatrick I hingga III, mereka yang ada di kelompok usia yang jauh lebih muda (dewasa 18 hingga 29 tahun), dan individu kulit putih non-Hispanik. Selain itu, individu yang menggunakan losion penyamakan kulit, melakukan

aktivitas fisik, pesta minuman keras, serta kelebihan berat badan juga lebih mungkin mengalaminya sengatan matahari.¹⁰

Fototipe Kulit Fitzpatrick:¹⁰

- Tipe I: Kulit putih pucat, mudah terbakar, tidak kecokelatan
- Tipe II: Kulit putih, mudah terbakar, tan dengan susah payah
- Tipe III: Kulit putih, bisa terbakar tetapi mudah menjadi cokelat
- Tipe IV: Kulit cokelat muda/zaitun, hampir tidak terbakar, mudah menjadi cokelat
- Tipe V: Kulit coklat, biasanya tidak gosong, mudah kecokelatan
- Tipe VI: Kulit hitam, sangat tidak mungkin terbakar, menjadi lebih gelap dengan paparan radiasi UV

Individu dengan fototipe kulit Fitzpatrick Tipe I hingga III berisiko lebih tinggi untuk terbakar sinar matahari. Pigmen melanin pada kulit berpengaruh terhadap kemampuan untuk menghalangi radiasi UV. Orang dengan fototipe kulit Fitzpatrick yang lebih rendah memiliki MED yang lebih rendah, atau dosis eritema minimal, jumlah radiasi UV yang diukur dalam energi per satuan luas yang menyebabkan eritema pada kulit yang tidak berpenyakit.¹⁰

2.1.3. Etiologi

Beberapa faktor yang meningkatkan kejadian sunburn:¹⁰

1. Obat-obatan: Risiko sengatan matahari meningkat dengan tetrasiklin (terutama doksisisiklin), diuretik tiazid, sulfonamid, fluorokuinolon, obat antiinflamasi nonsteroid, retinoid, dan St. John's wort di antara obat fotosensitisasi lainnya.

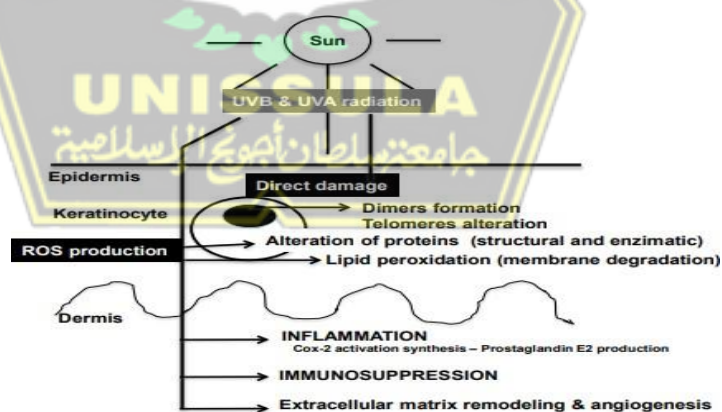
2. Peningkatan indeks UV:

- Waktu antara pukul 10 pagi sampai dengan 4 sore adalah saat sinar matahari terkuat.
 - Cakupan awan yang berkurang sesuai dengan peningkatan paparan sinar UV yang lebih kuat.
 - Ketinggian yang lebih tinggi berkorelasi dengan peningkatan risiko sengatan matahari karena lapisan perlindungan atmosfer bumi yang lebih kecil.
 - Kedekatan dengan khatulistiwa berkorelasi dengan paparan sinar UV yang lebih langsung.
3. Penipisan ozon: Wilayah tertentu di dunia mengalami penurunan ozon atau lubang di lapisan ozon. Ini sama dengan peningkatan penetrasi sinar UV matahari.
4. Fototipe kulit Fitzpatrick: Silakan lihat epidemiologi untuk informasi lebih lanjut. Semakin terang warna kulit, semakin mudah terbakar sinar matahari.
5. *Tanning*: *Tanning* atau menghabiskannya lebih banyak waktu di bawah sinar matahari teruntuk memperoleh kulit yang lebih gelap, telah menjadi hobi orang Amerika yang populer selama beberapa dekade. *Tanning* meningkatkan risiko kanker kulit dan mempercepat penuaan kulit. *Tanning* yang cepat dapat menyebabkan kulit terbakar.

2.1.4. Patogenesis

Sinar UVA dan UVB keduanya berperan dalam sunburn, dan dapat mempengaruhi homeostasis sel dan jaringan karena efeknya yang merusak integritas DNA, modifikasi ekspresi banyak gen, dan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS). ROS dapat merangsang perangan jaringan dan menyebabkan inflamasi. Meningkatnya ROS secara berlebihan dapat menyebabkan stres oksidatif, merupakan ketidakseimbangan antara sistem ROS dan kemampuan organisme untuk memperbaiki kerusakan yang disebabkan sinar UV.¹⁹

Mekanisme *fotoaging* melalui radiasi UV menginduksi terjadinya ROS dan kerusakan DNA, kemudian menjadi inflamasi, immunosupresi dan remodeling matriks ekstraseluler. Kerusakan pada ROS di lihat dengan adanya perubahan dimer, telomeres, perubahan struktur protein dan peroxidation lipid pada intrasel.



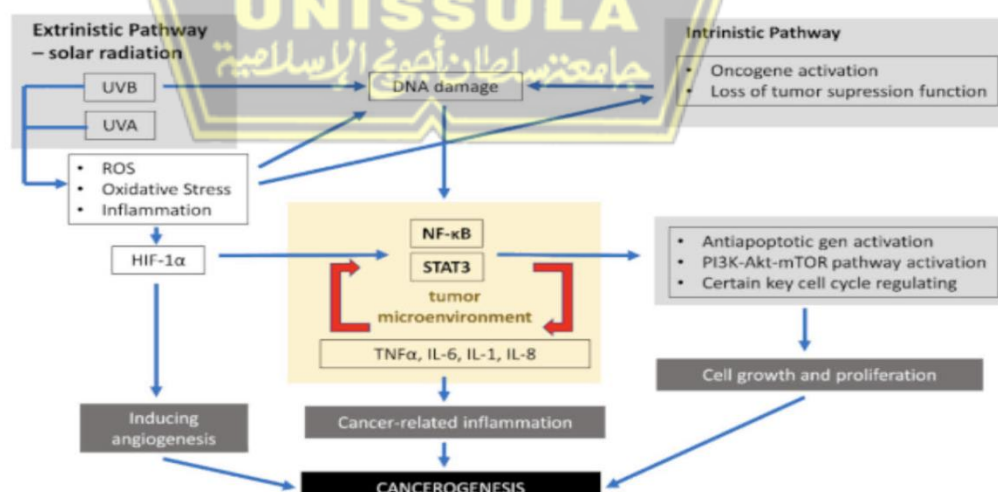
Gambar 2.1 kerusakan utama dari radiasi UV.¹²

UV A dan UV B menyebabkan stress oksidatif, yang selanjutnya akan mengaktifkan NF- κ B. Pelepasan NF- κ B dari inhibitornya mengakibatkan translokasi NF- κ B aktif ke nucleus untuk mengaktifkan sitokin inflamasi dan

prostaglandin.

Radiasi UV menginduksi gen pro inflamasi yang merupakan mediator dari *photoaging* dan *photocarcinogenesis*. Sitokin proinflamasi dapat menghilangkan atau memperbaiki kerusakan DNA akibat UV pada kulit. Bergantung pada tingkat keparahan pada kerusakan DNA setelah paparan sinar UV pada kulit, keratinosit di kulit dapat berkembang menjadi jalur perbaikan apoptosis. Kerusakan DNA yang tidak dapat diperbaiki, siklus sel terhenti dan keratinosit diubah menjadi sel yang rusak dan mengakibatkan terjadinya kanker.¹⁹

Mediator inflamasi dilepaskan dari keratinosit, fibroblast, sel tumor, leukosit dan lapisan endotel pembuluh darah. Mediator inflamasi antara lain mediator plasma (bradikinin, plasmin, fibrin), mediator lipid (prostaglandin, leukotriene, dan faktor pengaktif trombosit), dan sitokin pro inflamasi (IL-1, IL-6 dan TNF- α).¹²



Gambar 2.2 Jalur peradangan persinyalan yang diinduksi oleh radiasi ultraviolet yang terkait dengan perkembangan kanker.¹⁴

2.1.5. Diagnosis

Riwayat seputar sengatan matahari biasanya melibatkan paparan sinar matahari yang berlebihan tanpa perlindungan yang memadai. Sebagian besar pasien akan menyatakan bahwa mereka lupa mengoleskan tabir surya, lupa mengoleskan kembali, tidak berharap berada di bawah sinar matahari selama mereka berada, atau tidak memakai pakaian pelindung matahari.¹⁰

Pada pemeriksaan fisik, akan terdapat berbagai derajat eritema dan nyeri yang berbanding lurus dengan tingkat keparahan paparan sinar matahari. Mungkin ada area kulit yang tidak terpengaruh, terutama yang ditutupi oleh pakaian renang, topi, kacamata hitam, dan pakaian pelindung lainnya. Kulit mungkin terasa hangat saat disentuh, bengkak, atau gatal. Jika sengatan matahari parah, pasien mungkin mengalami gejala sistemik seperti mual, demam, dan menggigil. Jika terdapat lepuhan, ini mungkin mengindikasikan luka bakar dengan ketebalan parsial yang lebih dalam.¹⁰

2.2. Transforming Growth Factor (TGF- β)

2.2.1. Pengertian

Famili *Transforming Growth Factor (TGF)- β* terdiri lebih dari 30 anggota yang berbeda, termasuk tiga isoform TGF- β , empat aktivin dan lebih dari 20 protein morfogenetik tulang. TGF- β telah terbukti terlibat dalam banyak proses seluler yang beragam seperti halnya diferensiasi, proliferasi, adhesi, migrasi, serta apoptosis.⁴ Tiga isoform TGF- β , β 1, β 2 dan β 3, memiliki tingkat homologi urutan yang tinggi. TGF- β disekresikan sebagai kompleks laten yang harus diproses secara proteolitik dan dilepaskan dari latensi terkait peptida (LAP) yang

terletak di N-terminus molekul. Pembelahan proteolitik dilakukan oleh berbagai protease, seperti plasmin dan trombin, atau melalui interaksi fisik wilayah LAP dengan trombospondin-1.5. Pensinyalan oleh TGF- β dimulai melalui reseptor transmembran tipe I dan tipe II. Setiap isoform dapat mengikat dengan afinitas yang berbeda secara langsung ke reseptor tipe II yang aktif secara konstitutif, yang kemudian merekrut dan memfosforilasi reseptor tipe I, sehingga mengaktifkan transduksi sinyal melalui kinase reseptor tipe I. Reseptor kinase tipe I yang teraktivasi menyebarkan sinyal dengan fosforilasi protein efektor intraseluler yang disebut Smads. Tiga subkelas Smads, Smads yang diatur reseptor (R-Smad) dan Smads mitra bersama (Co-Smads) mentranslokasi ke nukleus dan mengatur transkripsi gen, sementara Smads penghambat (I-Smads) memusuhi fungsi pengaturan R-Smads dengan memblokir interaksinya dengan reseptor tipe I.²⁰

2.2.2. Sifat Aktifitas TGF- β

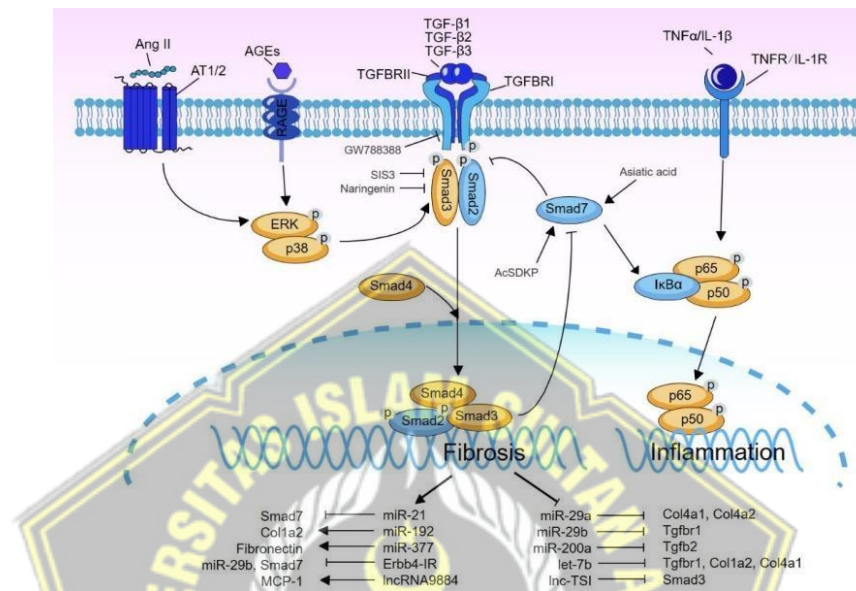
Ligan TGF- β mengandung 3 isoform, TGF- β 1, 2, dan 3, yang secara luas diekspresikan dalam berbagai jenis sel dan jaringan dengan TGF- β 1 sebagai yang dominan.²¹ Superfamili TGF- β yang mencakup protein morfogenik tulang (BMP), nodal, faktor pertumbuhan dan diferensiasi (GDF), dan aktivin.²² Ligan TGF- β disintesis sebagai protein prekursor yang lebih besar yang bagian N-terminalnya dibelah untuk melepaskan *C-terminal ligand* yang matang dalam bentuk homodimer. Peptida N-terminal yang dibelah (*latency associated peptide*, LAP) secara fisik berikatan dengan *C-terminal ligand*. Aktivitas homodimer TGF- β dewasa diasingkan oleh protein pengikat TGF- β laten (LTBPs), yang

disebut TGF- β s laten. TGF- β aktif dapat dilepaskan melalui pencernaan enzimatik atau lingkungan mikro asam.²²

Setelah dilepaskan dari LAP, TGF- β aktif berikatan dengan reseptor transmembran tipe 2 TGFBR2 yang merupakan serin/treonin kinase untuk merekrut dan mengaktifkan TGFBR1 (juga disebut kinase 5 mirip reseptor aktivin, ALK5) melalui fosforilasi. TGFBR1 yang diaktifkan kemudian memfosforilasi Smads yang diatur reseptor (R-Smad), di sini Smad2 dan Smad3, pada residu serin C-terminal mereka. Smad2 dan Smad3 adalah faktor transkripsi eksekutif dan memiliki kesamaan yang tinggi dalam hal urutan asam amino. R-Smads yang diaktifkan dapat membentuk kompleks dengan Smad4 (common Smad atau Co-Smad) dan mentranslokasi ke dalam nukleus untuk mengatur transkripsi gen target. Ada juga Smad7 penghambat yang diinduksi oleh Smad3 dan berikatan secara kompetitif dengan TGFBR1 untuk menghambat fosforilasi Smad2 dan Smad3. Selain itu, Smad7 juga dapat berfungsi untuk mendegradasi TGFBR1 dengan merekrut E3 ubiquitin ligase Smurf2.²³ Dengan demikian, Smad7 secara negatif memodulasi pensinyalan TGF- β melalui mekanisme umpan balik negatifnya.²⁴

Pengikatan ligan TGF- β aktif ke reseptor juga difasilitasi oleh betaglikan koreseptor tambahan yang terikat membran (TGFBR3) dan endoglin. Betaglikan menghadirkan ligan TGF- β ke TGFBR2 untuk membentuk kompleks terner, sehingga meningkatkan daya tanggap pensinyalan TGF- β . Betaglikan juga dapat terlepas dari membran untuk membentuk betaglikan yang larut. Berbeda dengan betaglikan yang terikat membran, betaglikan yang larut mencari aktivitas sinyal

TGF- β . Selain transduksi sinyal dari ligan TGF- β ke reseptor yang terikat membran, Smad2/3 juga dapat diaktifkan/difosforilasi oleh crosstalk dengan jalur MAPKERK/p38.²⁴



Gambar 2.3 Peran pengaturan sinyal TGF- β .²⁴

TGF- β 1 juga dapat mengaktifkan berbagai jalur Smad-independen (dikenal sebagai pensinyalan non-Smad) untuk menunjukkan bioaktivitasnya. Jalur non-Smad ini termasuk *TGF- β -activated kinase 1* (TAK1), *phosphatidylinositol 3-kinase/AKT*, dan jalur pensinyalan *Rho like GTPase* seperti yang dijelaskan sebelumnya.²⁵ Aktivasi jalur independen Smad ini dapat berfungsi sendiri atau secara sinergis dengan pensinyalan Smad untuk mengatur respons seluler hilir. Salah satu contohnya adalah bahwa TGF- β 1-terikat TGFBR1 secara langsung memfosforilasi protein polaritas sel Par6, yang merekrut E3 ubiquitin ligase *Smurf1* untuk menurunkan *Small GTPase RhoA* untuk memulai transisi epithelial-to-mesenchymal (EMT), menunjukkan kompleksitas pensinyalan TGF- β .²⁴

Ligan TGF- β (TGF- β 1/2/3) mentransduksi sinyal transmembrane, peran pengaturan sinyal TGF- β dalam proses luka. Ligan TGF- β (TGF- β 1/2/3) mentransduksi sinyal transmembrane melalui pengikatan ke TGFBR2 dan TGFBR1, menghasilkan fosforilasi jalur Smad2/3. Terfosforilasi Smad2/3 membentuk kompleks dengan Smad4 dan bertranslokasi ke nukleus untuk mengatur transkripsi gen target. Smad2/3 juga dapat diaktifkan melalui sinyal crosstalk dengan jalur MAPK ERK/p38. Smad7, sebuah Smad penghambat, bertindak untuk menghambat fosforilasi Smad2/3 dengan menargetkan TGFBR1. Selain itu, Smad7 juga menginduksi I κ B α , penghambat NK- κ B, untuk menekan pensinyalan NF- κ B. TGF- β juga menginduksi banyak miRNA/lncRNA yang bergantung pada Smad3 untuk mengatur DN, di antaranya miR-21, miR-192, miR-377, Erbb4-IR, dan lncRNA9884 diregulasi dan bersifat patogen. Namun, miR-29a/b, miR-200a, let-7b, dan lnc-TSI diregulasi ke bawah dan renoprotektif. Inhibitor atau agonis target sinyal TGF- β , yang kemanjurannya untuk pengobatan DN telah divalidasi dalam studi hewan, juga diberi label dalam ilustrasi. Garis dengan ujung panah berarti pengaturan positif, sedangkan ujung tumpul berarti pengaturan atau penghambatan negatif.²⁴

2.2.3. TGF- β dalam mengendalikan Proses Sunburn

Paparan sinar UV menginduksi aktivasi faktor nuklir kappa B (NF-KB). Menginduksi sekresi berbagai mediator inflamasi termasuk : IL-1, IL-6, TGF α dan VEGF. Pemblokiran NF-KB menghambat sekresi molekul-molekul ini. Hipotesis bahwa kerusakan DNA akibat UV bertanggung jawab atas aktivasi NF-KB telah diuji secara langsung. Penyelidikan menemukan bahwa sel yang

dienukleasi sepenuhnya responsif terhadap aktivasi NF-KB yang dipapar oleh UV. Ketergantungan panjang gelombang (spektrum aksi) untuk produksi TNF- β yang dipapar UV berkorelasi dengan spektrum aksi in vivo untuk pembentukan CPD yang dipapar UV. Produksi TNF- β berkorelasi dengan jumlah kerusakan DNA, membuat adanya hubungan antara keduanya. ²¹

Bersama dengan IL-1, TNF α , IL-6 adalah sitokin pertama yang ditemukan diregulasi di kulit setelah radiasi sinar UV. Kemudian ditemukan bahwa keratinosit dan sel mast merupakan sumber TNF- β . Setelah diekspersikan, TNF- β memiliki efek pada berbagai tipe sel. Ini juga dapat meningkatkan ekspresi MHC kelas I pada sel endotel dan fibroblas dermal yang dapat menginduksi produksi IL-1, meningkatkan ekspresi molekul adhesi, termasuk ICAM-1, VCAM-1 dan E-selectin dan menjadi pembentukan sel kulit terbakar. Meningkatkan regulasi molekul adhesi pada sel endotel, TNF- β membantu mendukung migrasi neutrofil dan makrofag ke kulit yang terpapar sinar UV. ²¹

2.3. Interleukin 6

2.3.1 Pengertian

Interleukin-6 (IL-6) ialah anggota dari keluarga sitokin pro-inflamasi, menginduksi ekspresi berbagai protein yang bertanggung jawab untuk peradangan akut, serta memainkan peran penting dalam proliferasi maupun diferensiasi sel yang ada pada manusia. Interleukin-6 (IL-6) adalah sitokin esensial yang mentransmisikan sinyal pertahanan dari invasi patogen atau situs kerusakan jaringan untuk merangsang reaksi fase akut, respon imun, hematopoiesis dan berbagai organ internal untuk mempersiapkan pertahanan

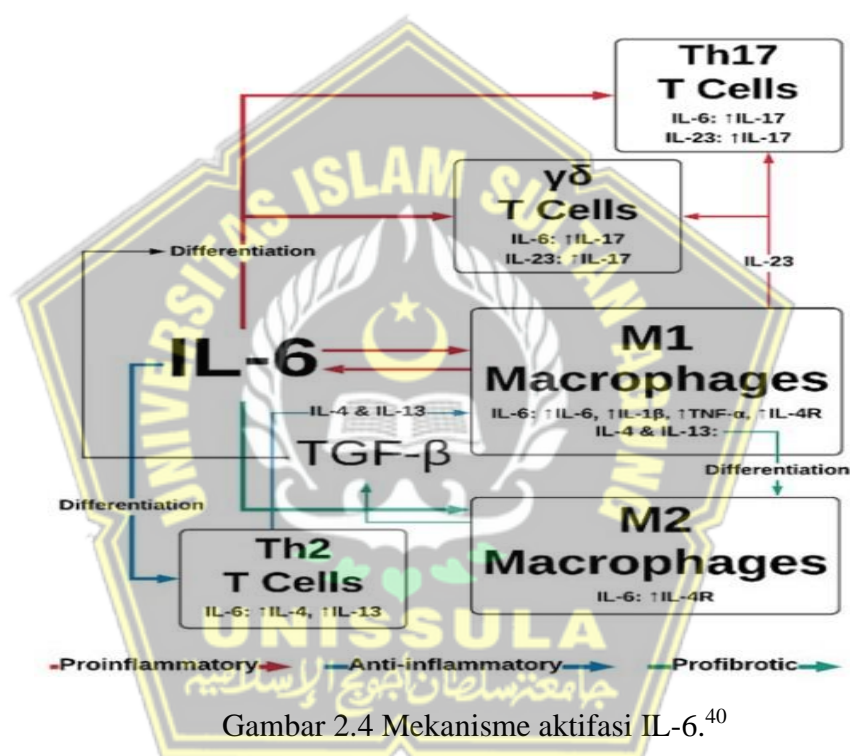
host. Namun, produksi IL-6 yang berlebihan dan berkelanjutan dikaitkan dengan berbagai penyakit inflamasi. Nilai lebih dari 1000 pg/mL dapat terjadi selama syok septik atau badai sitokin dan pada kasus yang parah, tingkat yang diukur dalam g/mL dapat dicapai, di mana sinyal pertahanan yang berlebihan dapat mengancam kelangsungan hidup.^{22,23}

2.3.2. Sifat Aktifitas Interleukin 6 (IL-6)

Produksi interleukin 6 (IL-6) yang cepat dan spontan, yang terjadi sebagai respons terhadap infeksi dan kerusakan jaringan, membantu pertahanan dengan meningkatkan respons fase akut, hematopoiesis, dan respons imunologi. Ekspresi IL-6 diatur secara ketat oleh mekanisme transkripsi dan pasca-transkripsi, produksi IL-6 yang tidak teratur memiliki efek buruk pada peradangan kronis dan penyakit autoimun.³⁵ Pada awal peradangan, lesi lokal menghasilkan IL-6, yang kemudian diangkut melaluinya aliran darah ke hati, tabf mana ia dengan cepat menginduksi beberapa protein fase akut termasuk serum amiloid A (SAA), protein C-reaktif (CRP), haptoglobin, fibrinogen, serta al-antichymotrypsin.³⁶

IL-6 juga mengirimkan sinyal peringatan jika terjadi kegagalan jaringan, pada inflamasi non-infeksi, seperti luka bakar atau trauma, *damage-associated molecular pattern* (DAMPs) yang dihasilkan oleh sel yang rusak atau sekarat menyebabkan inflamasi baik secara langsung maupun tidak langsung. Peningkatan kadar IL-6 serum mendahului perubahan suhu tubuh dan kadar protein fase akut serum setelah operasi steril.³⁷ DAMPs sel yang terluka termasuk berbagai molekul seperti DNA mitokondria (mt), kelompok mobilitas

tinggi kotak 1 (HMGB1), dan protein S100.³⁸ Kadar mtDNA serum pada pasien trauma 1.000 kali lipat lebih tinggi daripada kontrol, dan peningkatan ini menghasilkan TLR9 dan aktifnya NF κ B, sementara pengikatan HMGB1 ke TLR2, TLR4, dan reseptor produk akhir glikasi lanjutan (RAGE) dapat memicu inflamasi.³⁸ Keluarga protein S100 mencakup lebih dari 25 anggota, beberapa di antaranya juga berinteraksi dengan RAGE untuk menginduksi inflamasi steril.³⁹



Gambar 2.4 Mekanisme aktivasi IL-6.⁴⁰

2.3.4. Peran IL-6 dalam mengendalikan proses Sunburn

Produsen utama IL 6 adalah monosit, makrofag. Ada beberapa penghasil IL 6 secara konstitutif yaitu sel T, sel B, hepatosit, sel endotel, fibroblas, keratinosit, sel mesangial dan adiposit. IL 6 sitokin pro inflamasi yang mempengaruhi beberapa proses imun dan fisiologis, seperti gen protein fase akut (misalnya, protein C-reaktif (CRP, hepcidin, dll). Produksi IL-6 selama

kondisi inflamasi di stimulasi oleh IL-1 atau TGF- β atau melalui stimulasi reseptor Toll-like setelah pengikatan pola patogenik mikroba.²⁴

Sifat pleiotropik IL-6 ditunjukkan oleh aksinya baik dalam cara proinflamasi maupun antiinflamasi. IL-6 adalah mediator kunci dalam berbagai proses inflamasi di mana jaringan merespons cedera dan infeksi, baik dalam reaksi fase akut atau penyakit inflamasi kronis, dan diyakini mengatur resolusi kekebalan bawaan akut dan untuk mengarahkan transisi ke respon imun yang didapat. Interaksi yang diketahui antara pensinyalan IL-6 dan banyak faktor pengatur (IFN-g, mengubah faktor pertumbuhan-b, faktor transkripsi STAT3, NF-kB) yang telah terlibat dalam resolusi peradangan akut, tetapi juga perpanjangan peradangan kronis. Di kulit, epidermal IL-6 sangat penting untuk penyembuhan luka yang sehat, yang terganggu pada IL-6/tikus, tetapi tumor kulit (melanoma dan karsinoma sel basal) dilaporkan mengekspresikan IL-6, menghasilkan penghambatan apoptosis, peningkatan aktivitas siklooksigenase dan peningkatan kadar cAMP intraseluler. Tindakan pleiotropik IL-6 mungkin memiliki relevansi dalam kondisi kontradiktif reaksi eritema kulit inflamasi terhadap radiasi UV, disertai dengan penekanan kekebalan dan ekspresi sitokin antiinflamasi.²⁵

2.4. Daun Sawo (*Manilkara zapota* L.P Royen)

2.4.1. Tinjauan Tentang Sawo Manila (*Manilkara zapota*)

Sawo manila ialah buah yang sangatlah begitu populer yang ada di kawasan Asia Tenggara. Wilayah tersebut ialah produsen serta juga sekaligus menjadi konsumen utama dari buah sawo yang ada di dunia ini. Mayoritas dari

buah sawo manila dikonsumsi dalam keadaan yang masih segar. Sawo yang sudah siap teruntuk dikonsumsi ialah sawo yang telah matang, sawo yang mempunyai mutu terbaik yakni sawo yang memiliki warna coklat tua serta juga empuk.²⁶



Gambar 2.5 Buah Manilkara zapota (L.) P. Royen (Hartati et al, 2013)²¹

2.4.2. Klasifikasi Tanaman

Kedudukan taksonomi tanaman sawo manila (*Manilkara zapota* L. Van Royen) ialah seperti berikut:

Kerajaan : *Plantae*

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida*

Bangsa : *Ebenales*

Suku : *Sapotaceae*

Marga : *Manilkara*

Jenis : *Manilkara zapota*

Sawo manila sendiri mempunyai berbagai macam nama seperti yang ada di negara Inggris, buah ini mempunyai lebih daripada 1 macam nama yakni

common naseberry, chickle gum, chicle tree, sapodilla, serta juga naseberry. Lalu di negara Jerman, sawo 7 manila juga mempunyai cukup banyak nama juga yakni disebut dengan Sapodilla ataupun Breiapfelbaum. Di negara Indonesia sendiri, sawo manila dikenalnya dengan sebutan ciku, sawo londo, serta sawo manila. Akan tetapi, suku jawa kerap kali menyebutnya dengan sebutan sawo london.²⁶

2.4.3. Morfologi Tanaman

Sawo ialah pohon buah yang mempunyai usia yang cukup terbilang panjang. Pohon serta buahnya dikenal dengan berbagai macam nama seperti halnya sauh, sawo, maupun sauh manila. Memiliki pohon yang rindang serta besar, bisa tumbuh sampai dengan ketinggian yang mencapai 30-40 m, sawo juga mempunyai batang yang kasar, memiliki warna abu-abu kehitaman sampai coklat tua, serta juga mempunyai cabang yang tidak tinggi. Keseluruhan dari bagian yang ada pada tanaman ini memiliki kandungan getah dengan warna putih susu yang cukup kental. Daun tunggal terletak secara berseling, sering mengumpul di ujung rantingnya. Memiliki daun yang bertepi rata serta juga sedikit berbulu, wujud bundar telur jorong sampai agak lanset 1,5x 3,5-15 cm, memiliki warna hijau tua yang mengkilap, ujung serta pangkal berbentuk baji, memiliki tangkai 1-3,5 cm, tulang daun utama menonjol ke sisi yang sebelah bawah.²⁶

2.4.4. Ekologi dan Penyebaran

Menurut dari BAPPENAS (2005), menyatakan bahwasanya sawo ialah sebuah tanaman buah yang asalnya dari Meksiko, Guatemala (Amerika Tengah),

serta juga Hindia Barat. Tanaman sawo yang ada di negara Indonesia sudah lama dikenal serta juga cukup banyak ditanam mulai dari dataran rendah sampai dengan lokasi yang memiliki ketinggian mencapai 1200 m di atas dari permukaan laut, seperti halnya yang ada di Madura maupun Jawa. *Manilkara zapota* L. ialah pohon yang hidup di daerah tropis serta memiliki pertumbuhan yang sangatlah begitu cepat yang dimilikinya oleh keluarga dari Sapotaceae (genus *Manilkara*) serta pada umumnya dibudidayakan teruntuk diambil buahnya. Sawo manila bisa ditemui di keseluruhan wilayah tropis yang ada di keseluruhan dunia. Buah ini asalnya dari Amerika Selatan serta Tengah, yang mana populasi paling besar dari pohon asli masihlah ada di Semenanjung Yucatan Meksiko sampai dengan ke Kosta Rika.²⁶

2.4.5. Manfaat dan Aktifitas Biologi

Didalam buah sawo yang matang memiliki banyak kandungan gula, zat lemak, vitamin B1, garam fosfat, serta juga vitamin C yang memiliki kandungan antioksidan yang sangat berguna teruntuk para penderita Diabetes Melitus. Selain daripada itu, bagian dari 8 buah, getah, buah muda serta juga daunnya dapat dipergunakan untuk dijadikan sebagai obat diare, di bagian batang maupun daun memiliki kandungan flavonoid. Secara empiris, buah sawo manila telah cukup banyak dipergunakan oleh para masyarakat guna pengobatan demam tipoid. Dikarenakan penggunaannya yang cukup sederhana serta bahan-bahannya juga gampang untuk bisa diperoleh hingga relatif terjangkau di kalangan para masyarakat. Riset menunjukkan bahwasanya ekstrak dari bunga *Manilkara zapota* mempunyai aktivitas anti kanker dengan nilai IC50 sebesar

12,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Selain daripada itu, riset yang lain dengan jus buah sawo mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC50 dengan jumlah 87,53 $\mu\text{m}/\text{mL}$.²⁶

2.4.6. Kandungan Kimia Tanaman

Ada cukup banyak kandungan senyawa kimia yang ada di dalam buah sawo, diantaranya ialah saponin, flavonoid, serta juga tannin. Bagian daun *Manilkara zapota* juga memiliki kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, serta juga glikosida. Bagian bijinya memiliki kandungan saponin, saptin, alkaloid, achras saponin, saptinine (0,08%), serta fixed-oil (16-23). Selain daripada itu, biji *Manilkara zapota* juga memiliki kandungan asam hidrosianat. Lalu, sawo juga diketahuinya ialah salah satu daripada sumber yang baik dari asam askorbat, fenolik, serta karetenoid yang dilaporkannya mempunyai banyak sekali manfaat teruntuk kesehatan.²⁶

2.4.7. Manfaat Secara Medis

Manilkara zapota memiliki nilai obat antioksidan yang tinggi.^{27,28} Daun dan buah sawo telah dipergunakan dalam pengobatan tradisional teruntuk mengobati berbagai macam penyakit.²⁵ Buahnya manis, bergizi dan dengan karakteristik rasa yang lembut, kulit dan epicarp dipilih untuk ekstraksi pektin, bijinya digunakan untuk membuat minyak dan daunnya secara tradisional digunakan untuk pengobatan batuk, pilek, disentri, dan diare.²⁸

M. zapota telah dilaporkan menunjukkan aktivitas anti-inflamasi, antipiretik, antitumor, antioksidan, antimikroba, antidiabetes, antilipidemic, anti-penuaan, dan acaricidal.^{30,31} Sawo baru-baru ini terbukti memicu apoptosis

di berbagai jalur sel dengan mengaktifkan jalur mitokondria. Selain efek menguntungkan ini, buah sawo mengandung protein alergen yang dapat menyebabkan alergi terkait makanan.²⁹

2.5. Hubungan Daun Sawo dengan IL-6 dan TGF- β

Interleukin (IL-6) dan *transforming growth factor* (TGF)- β telah terbukti berperan dalam perkembangan dan pemeliharaan kulit. Keratinosit epidermis adalah produsen utama IL-6 di dalam kulit, sedangkan makrofag, Langerhans sel dan fibroblast di dermis mewakili sumber lain dari sitokin. Peningkatan kadar IL-6 telah dikaitkan dengan sejumlah patologi kulit, seperti psoriasis, skleroderma dan lupus eritematosus sistemik. Ekspresi berlebihan IL-6 di kulit tikus normal menginduksi proliferasi dan peradangan epidermal, sementara tikus transgenik yang mengekspresikan IL-6 secara berlebihan menunjukkan sedikit lebih dari penebalan stratum korneum.²⁰

Ekspresi IL-6 menghasilkan penghambatan apoptosis, peningkatan aktivitas siklooksigenase dan peningkatan kadar cAMP intraseluler. Tindakan pleiotropik IL-6 mungkin memiliki relevansi dalam kondisi kontradiktif reaksi eritema kulit inflamasi terhadap radiasi UV, disertai dengan penekanan kekebalan dan ekspresi sitokin antiinflamasi.²⁵

Ditemukan bahwa IL-6 berperan dalam memodulasi ekspresi faktor pertumbuhan ini dan reseptornya pada fibroblas dermal IL-6KO di kulit. Jalur transduksi sinyal spesifik IL-6 yang mungkin mengarah pada induksi TGF- β pada fibroblas IL-6KO diselidiki, dan ditemukan bahwa ekspresi faktor pertumbuhan yang diinduksi IL-6 tampaknya bergantung pada *extracellular signal-regulated*

kinase (Erk)1/2 pathway dan menampilkan crosstalk dengan janus kinase/signal transducers dan activator of transcription (Jak/Stat) pathway.²⁰



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori

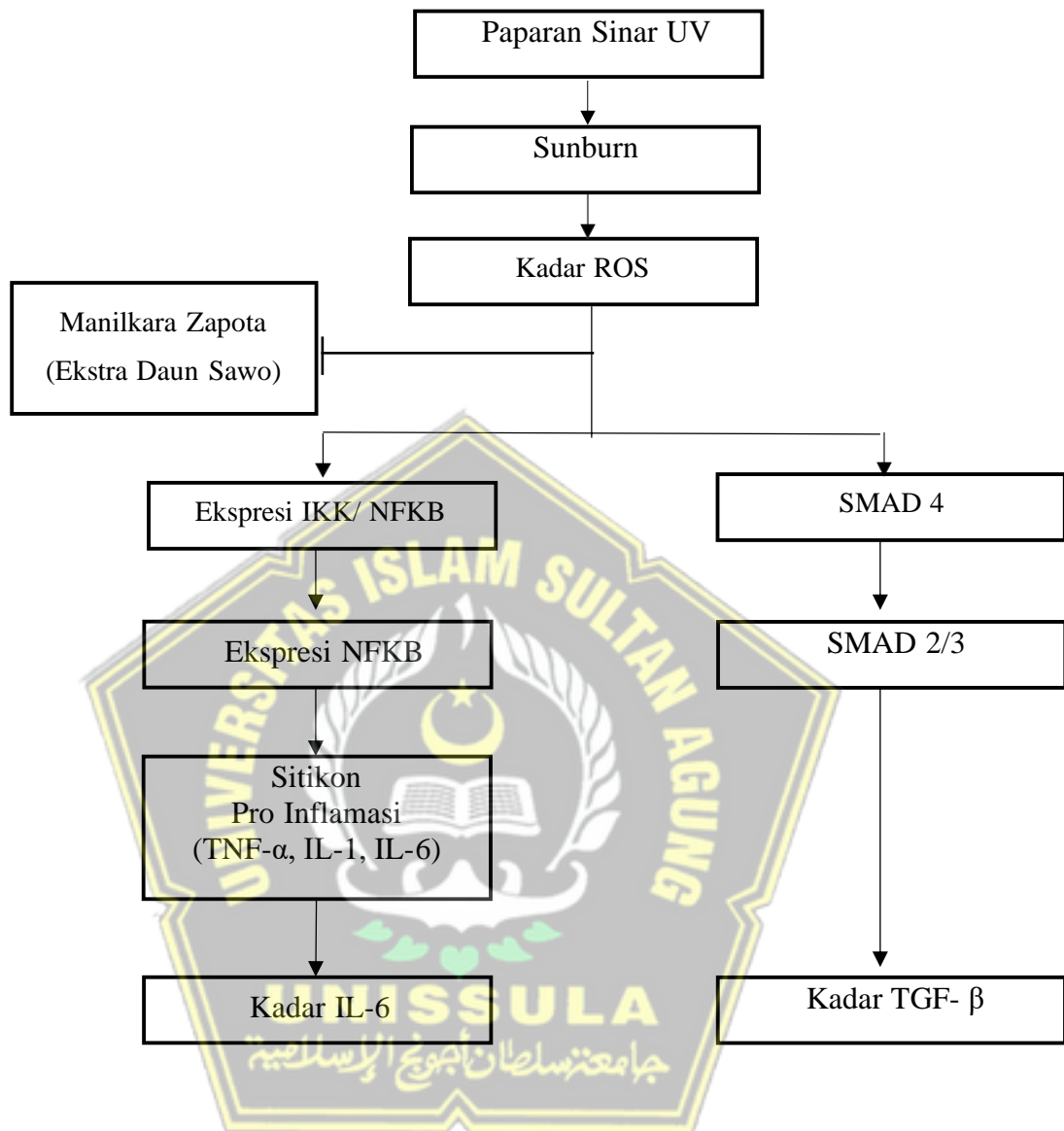
Paparan sinar ultraviolet pada manusia yang berlebihan dapat menyebabkan masalah kesehatan berupa sunburn, kondisi inflamasi pada menyebabkan tubuh lebih banyak memproduksi radikal bebas. Radikal bebas ini akan berikatan dengan oksigen reaktif menghasilkan *reactive species* (ROS).¹⁹ Apabila terjadinua ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas serta antioksidan yang ada di dalam tubuh manusia bakal terjadi kondisi stress oksidatif, yang merupakan ketidakseimbangan antara sistemik ROS dan kemampuan organisme untuk mendetoksifikasi intermediet reaktif dan untuk memperbaiki kerusakan yang dialami.¹⁹

Radiasi UV mengurangi stress oksidatif yang dihasilkan mengubah jalur tranduksi sinyal seperti mitogen-activated protein kinase (MAPK), faktor-kappa beta nuklir (NF-kb)/p65, janus kinase (JAK), tranduksi sinyal dan aktivasi transkripsi (STAT). Radiasi UV menginduksi gen pro-infamasi dan menyebabkan imunosupresi dengan menurunkan jumlah dan aktifitas sel Langerhans epidermal. Radiasi UV merusak ECM dengan meningkatkan matrixmetalloproteinases (MMPs) dan mengurangi struktur kolagen dan elastin.¹ Radiasi UVB bekerjapada lapisan superfisial kulit hingga ke tingkat lapisan basal. Denganmempengaruhi terutama sel-sel keratinosit, melanosit dan Langerhans sehingga menyebabkan luka bakar dan eritema kulit dan berkontribusi padakerusakan struktur DNA.¹⁹ Pada kondisi sunburn terjadi ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan

yang dihasilkan sehingga pemberian antioksidan dari luar tubuh sangat diperlukan.¹⁹

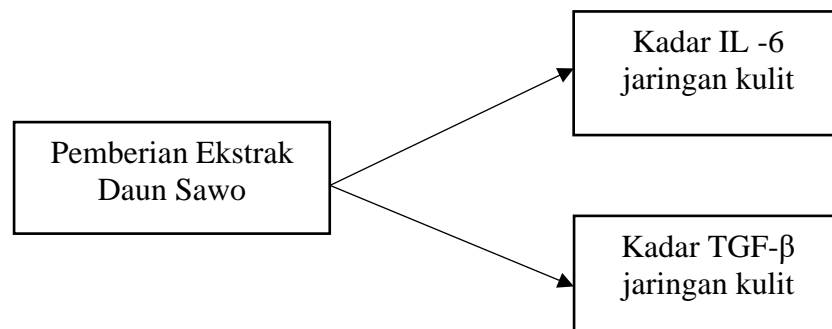
Sitokin proinflamasi adalah salah satu faktor pertama yang diproduksi sebagai respon terhadap sunburn. Sitokin proinflamasi terutama termasuk tumor necrosis factor (TNF- β), interleukin (IL)-1, IL-6 dan IL 17, berpartisipasi dalam fase inflamasi luka. Fase inflamasi penyembuhan luka, TNF- β menginduksi sintesis molekul adhesi permukaan sel pada neutrofil dan sel endotel, yang penting untuk migrasi neutrofil dan adhesi ke endotelium.¹⁹

Efek flavonoid sebagai antioksidan bisa menstabilkannya ROS dengan melaluinya reaksi dengan senyawa reaktif dari radikal hingga stress oksidatif menurun dan sunburn dapat diatasi. Penurunan ROS juga mengakitkannya NF-kB serta fosforilasi inhibitor NF-kB tidak teraktivasi hingga terjadinya penurunan IL-6 oleh makrofag. Penurunan IL-6 dan peroksidasi lipid dapat menekan terjadinya inflamasi dan kerusakan jaringan. Perlawanan utama terhadap stress oxydatif ini dapat dicapai dengan pemberian antioksidan.¹⁹



Gambar 3.1 Kerangka teori

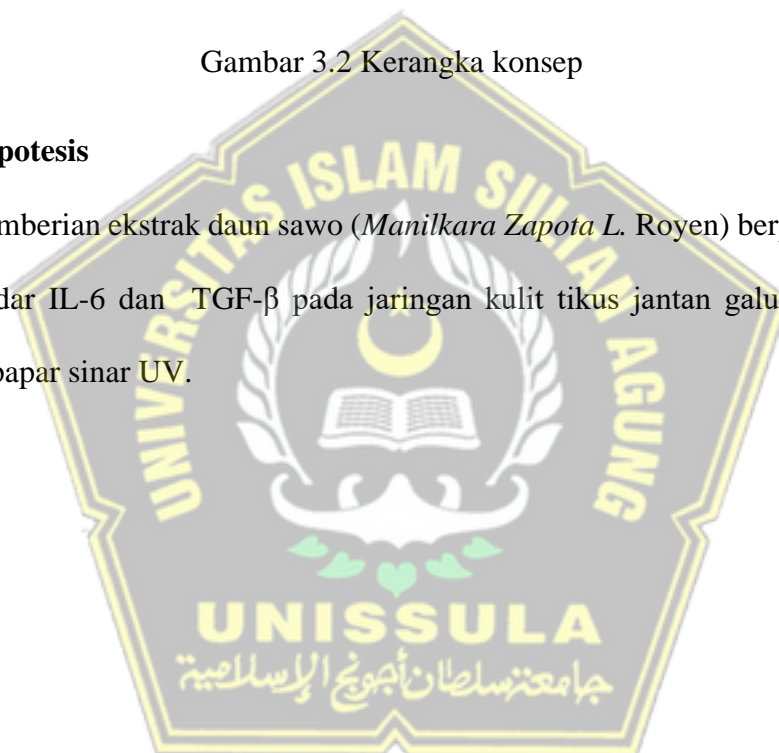
3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka konsep

3.3. Hipotesis

Pemberian ekstrak daun sawo (*Manilkara Zapota L. Royen*) berpengaruh pada kadar IL-6 dan TGF- β pada jaringan kulit tikus jantan galur *Wistar* yang dipapar sinar UV.

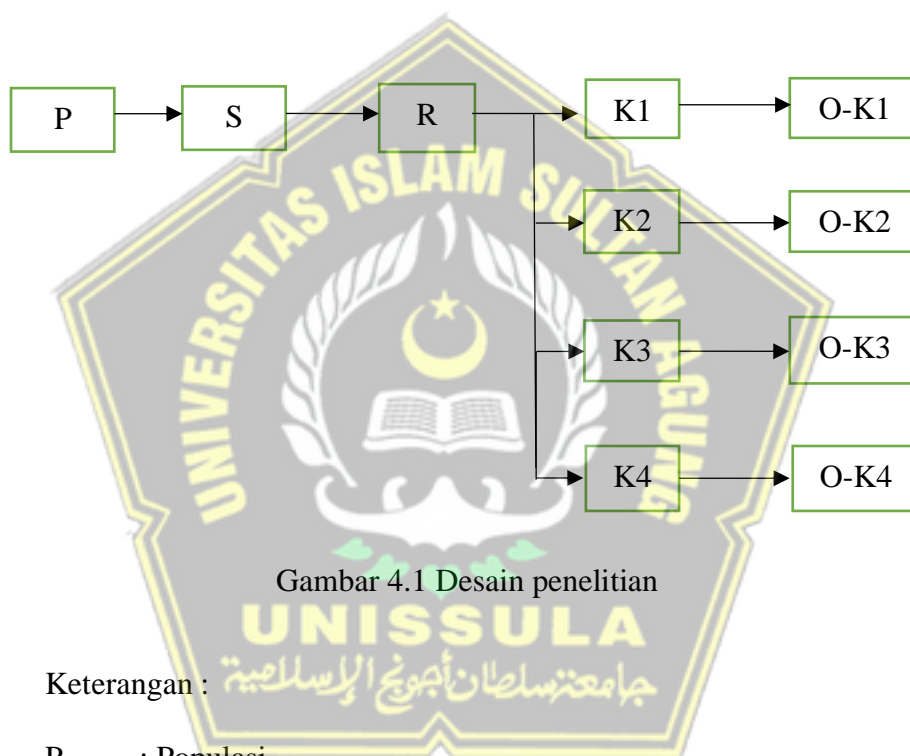


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan suatu penelitian eksperimental *Post Test Only Control Group Design*. Desain penelitian dapat dilihat pada gambar.



P : Populasi

S : Sampel

R : Random Alokasi

K1 : Kelompok tikus tanpa perlakuan

K2 : Kelompok tikus yang dipapar sinar UV selama 3 hari dan diberi cream plasebo (*base cream*) selama 3 hari

K3 : Kelompok tikus yang dipapar sinar UV selama 3 hari dan diberi cream ekstrak daun sawo 25 % selama 3 hari.

K4 : Kelompok tikus yang dipapar sinar UV selama 3 hari dengan diberi cream ekstrak daun sawo 50% selama 3 hari.

O-K1 : Observasi/ pengukuran kadar TGF- β dan IL-6 pada kelompok K1.

O-K2 : Observasi/ pengukuran kadar TGF- β dan IL-6 pada kelompok K2.

O-K3 : Observasi/ pengukuran kadar TGF- β dan IL-6 pada kelompok K3.

O-K4 : Observasi/ pengukuran kadar TGF- β dan IL-6 pada kelompok K4.

4.2. Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1. Pemilihan Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus strain Wistar jantan dewasa (2-3 bulan; 190-210 g) yang telah dilakukan pemeriksaan kembali oleh dokter hewan di Laboratorium IBL dan dinyatakan dalam kondisi sehat. Sebelum memulai penelitian, tikus menjalani periode penyesuaian selama 7 hari. Tikus dikandangkan secara individual dan dipelihara pada suhu konstan dan diberi makan diet normal dan akses minum secara bebas.

A. Kriteria Inklusi Penelitian

1. Sehat
2. Makan dan minum cukup
3. Gerak aktif
4. Tidak terdapat kelainan di kulit dan morfologi secara mikroskopis
2-3 bulan, 190-210 gr

B. Kriteria *Drop Out*

1. Tikus mengalami kematian

4.2.2. Besar Sampel

Pengambilan sampel teruntuk penelitian eksperimental, mempergunakan rumus Federer:

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

Keterangan:

$$t = \text{Jumlah kelompok} = 4$$

$$n = \text{Jumlah sampel per kelompok}$$

didasarkan dari rumus yang ada diatas, maka daripada itu jumlah sampel yang ada pada setiap kelompok bisa dihitung dengan cara mempergunakan rumus dibawah ini:

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

$$(3n - 3) \geq 15$$

$$n \geq 6$$

$$n = 6$$

dalam penelitian ini jumlah sampel teruntuk setiap kelompok ditentukannya sebanyak 6 ekor tikus, serta jumlah dari kelompok ada 4 buah, hingga riset maupun penelitian ini memerlukan sebanyak 24 ekor tikus. Teruntuk mengantisipasi risiko maka daripada itu dilakukannya pengkoreksian dengan menggunakan rumus: $n / 1-DO$, yang mana proporsi unit eksperimen yang hilang ataupun *drop out* berjumlah sebanyak 10%, maka daripada itu:

$$N \text{ akhir tiap kelompok} = n / 1-DO$$

$$N = 6 / 1 - 10\%$$

$$N = 7$$

Jumlah sampel yang ada pada tiap-tiap kelompok yakni sebanyak 7 ekor tikus. Hingga teruntuk 4 kelompok, dibutuhkan sebanyak sampel dengan jumlah 28 ekor tikus. Kelompok validasi ditambahkan 1 ekor yang ada pada kelompok tanpa perlakuan (K1) serta 2 ekor tikus pada kelompok perlakuan, sehingga total keseluruhan sampel berjumlah 31 ekor tikus.

4.2.3. Teknik Sampling

Pengambilan sampel yang ada pada penelitian ini dengan mempergunakan Teknik *probability sampling* dengan cara pengambilan sampel dalam populasi yang mempunyai kesempatan yang sama teruntuk dipilih menjadi sampel. Sistem yang digunakan yaitu pengambilan sampel secara acak dan sangat sederhana (*simple random sampling*). Semua tikus wistar yang memenuhi kriteria untuk penelitian sejumlah 28 ekor yang dibagikan jadi 4 macam kelompok perlakuan secara random. Terdapat satu kelompok control serta lainnya sebagai kelompok perlakuan yang berjumlah 3 ekor sebagai kelompok validasi.

4.3. Variabel dan Definisi Operasional

4.3.1. Variabel Penelitian

- Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun sawo menggunakan dosis 25% dan 50%.
- Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar IL-6 dan TGF- β .
- Variabel prakondisi adalah paparan sinar UVB.

4.3.2. Definisi Operasional

1. Ekstrak daun Sawo adalah ekstrak dari daun Sawo (*Manilkara Zapota* (L.) P. Royen) menggunakan pelarut etanol yang dibuat sediaan krim dengan konsentrasi 25% dan 50%. Pada daun Sawo diketahui mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, glikosida, tanin dan saponin. Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan dan anti inflamasi yang membantu untuk menangkal radikal bebas yang mencetus inflamasi.

Unit : mg/kgBB

Skala : Rasio.

2. Kadar Interleukin- 6 adalah banyaknya IL-6 yang terdapat dalam jaringan kulit yang telah dihomogenisasi (dihancurkan) dalam PBS (pH 7,4), dan IL - 6 konsentrasi dalam supernatant diukur dengan menggunakan ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*).

Unit : ng/ml.

Skala : Rasio

3. Kadar TGF- β adalah banyaknya TGF- β yang terdapat dalam jaringan kulit yang telah dihomogenisasi (dihancurkan) dalam PBS (pH 7,4), dan TGF- β konsentrasi dalam supernatant diukur dengan menggunakan ELISA.

Unit : ng/ml.

Skala : Rasio

4.3.3. Bahan/Materi Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Ekstrak daun sawo *Manilkara zapota*
2. Akuabides
3. Ketamine
4. Bahan untuk pembuatan preparat: alkohol 70%, 80%, parafin,
5. Fine test ELISA kit Rat IL-6
6. Fine test ELISA kit Rat TGF- β

4.4. Peralatan

1. Kandang berukuran 55 x 22 x 22 cm dilengkapi dengan tempat pakan dan minum
2. Lampu UV-B
3. Timbangan digital
4. Pipa PVC
5. Pisau scalpel
7. Oven, botol maserasi, *rotary evaporator*
8. Cawan porselen, pemanas air, mortar.
9. Tabung spesimen dan label nama

4.5. Alur Penelitian

4.5.1. Perolehan Ethical Clearance

Ethical clearance penelitian di ajukan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

4.5.2. Cara Kerja Pembuatan Ekstrak Etanol Daun *Manilkara zapota*

- Daun *Manilkara zapota* segar sebanyak 1 kg, dicuci bersih dengan menggunakan air mengalir.

- Daun *Manilkara zapota* kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 40° C.
- Simplisia dicek kadar airnya dengan *moisture balance* (Depkes RI, 1985). Hasil pengeringan simplisia dianggap baik jika kadar air di bawah 10%.
- Simplisia dibuat serbuk dengan diblender, kemudian diayak dengan ayakan ukuran 20 mesh.
- Pembuatan ekstrak daun *Manilkara zapota* dilakukan dengan metode maserasi.
- Sebanyak 450 gram serbuk simplisia daun *Manilkara zapota* ditimbang, dimasukkan ke dalam toples, kemudian ditambah cairan penyari etanol 96% sebanyak 1.500 mL.
- Campuran diaduk hingga semua serbuk terbasahi, ditutup, dan dibiarkan selama 3 hari terlindung dari cahaya.
- Tahap selanjutnya dilakukan pengadukan rutin 3 kali sehari.
- Setelah 3 hari hasil maserasi disaring, ampasnya dilakukan remaserasi selama 2 hari dengan volume etanol 96 % sebanyak 1.500 mL.
- Maserat dikentalkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental.
- Ekstrak kental daun *Manilkara zapota* yang diperoleh dihitung rendemennya, kemudian dibuat dalam bentuk krim 25% dan 50%.³²

4.5.3. Perlakuan pada Hewan Coba

- Subjek penelitian ialah 30 ekor tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*), berumur 10-12 minggu, dengan berat badan 190-210 gr, yang terbagi menjadi 5 kelompok, masing-masing berjumlah 6 ekor tikus.
- Tikus yang sudah diadaptasi selama 7 hari dibius dengan campuran ketamin (60 mg/kgbb) dan xylazine (20mg/bb), kemudian rambut pada bagian dorsal tikus dicukur hingga bersih dengan ukuran 5x5 cm.
- Punggung tikus dipapar dengan UV light (broadband dengan peak emission 302 nm) dengan dosis minimal erythema 160 mJ/cm²/hari selama 3 hari.
- Tikus kemudian diberikan perlakuan sesuai dengan kelompoknya.
- Diberikan perlakuan secara topikal sebanyak satu kali sehari selama 3 hari pasca penyinaran UVB.

4.6. Tempat dan Waktu Penelitian

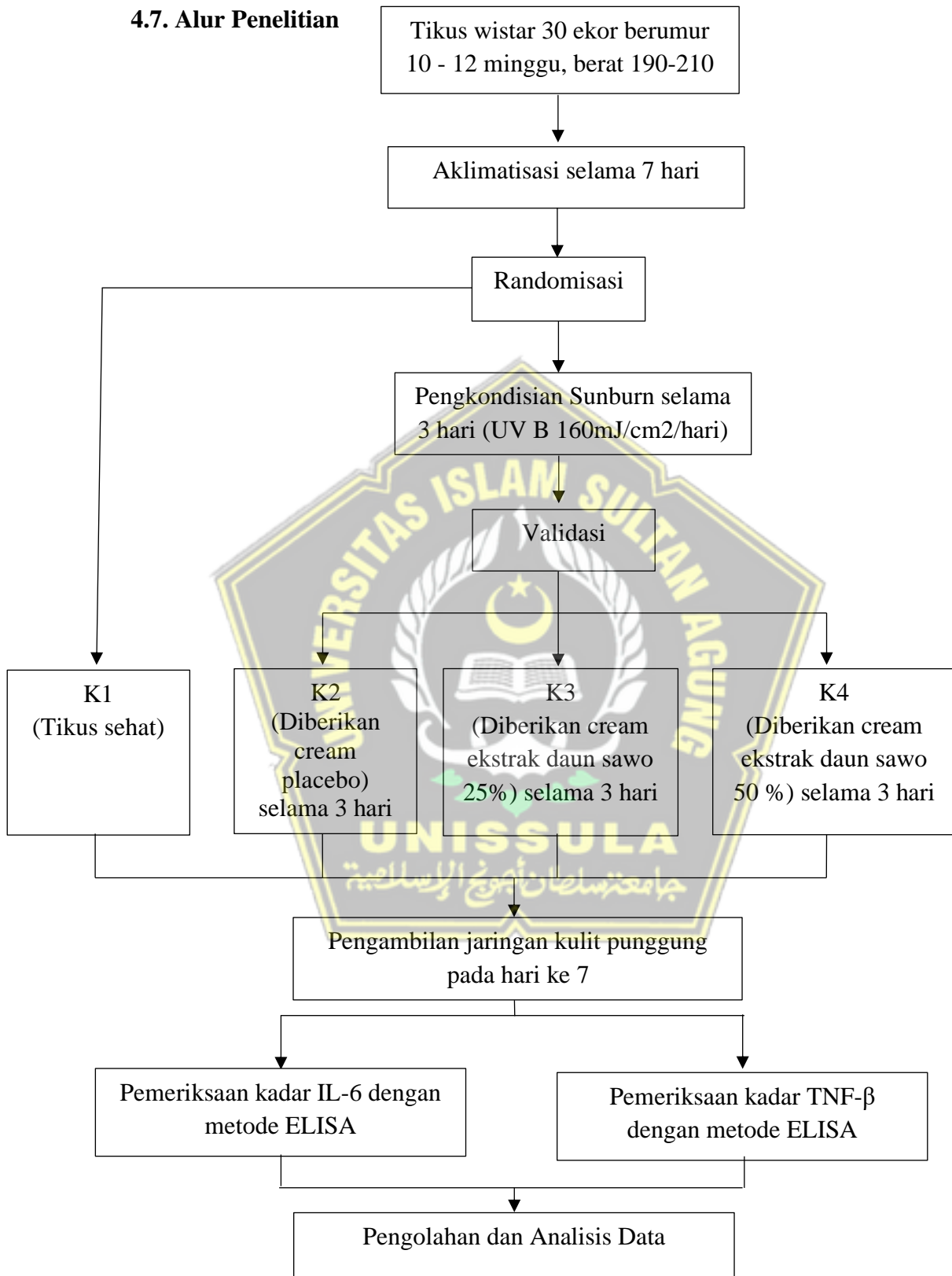
4.6.1. Tempat Penelitian

Pengambilan sampel penelitian dilakukan di Laboratorium IBL FK UNISSULA.

4.6.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2023 - Januari 2024

4.7. Alur Penelitian



Gambar 4.2 Alur penelitian

4.8. Analisis Data

Analisis bertujuan untuk menguji hipotesis penelitian. Hipotesis yang diuji adalah pengaruh pemberian ekstrak daun sawo terhadap kadar IL-6 dan TGF- β pada jaringan kulit tikus jantan galur wistar yang dipapar radiasi Ultraviolet. Hasil penelitian yang didapat kemudian dianalisis dan disajikan menggunakan analisis deskriptif, normalitas data diuji dengan *Shapiro-wilk test*, uji homogenitas menggunakan *Leuvene Test*. Berdasarkan hasil analisis yang diperoleh distribusi data normal dan homogen sehingga dianalisis dengan uji *One Way Anova*, selanjutnya diuji *post hoc LSD* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Keputusan untuk menolak atau menerima berdasarkan α 5 %.



BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian ekstrak daun sawo (*Manilkara zapota* L.P Royen) terhadap kadar IL-6 dan TGF- β pada tikus putih jantan galur wistar yang dipapar UV. Penelitian eksperimental *In Vivo* dilakukan selama bulan Desember 2023- Januari 2024 di IBL (*Integrated Biomedical Laboratory*) FK Unissula Semarang. Total sampel dalam penelitian berjumlah 28 ekor tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang dibagi menjadi 4 kelompok, terdiri dari 7 ekor tikus. Penambahan kelompok validasi sebanyak 3 ekor tikus yang dibagi 1 ekor pada kelompok tanpa perlakuan dan 2 ekor pada kelompok perlakuan untuk dibuat preparat histologi jaringan kulit dengan pewarnaan *Hematoxilin* dan *eosin* (H&E).

Kelompok penelitian dibagi menjadi kelompok (K1) tikus tanpa perlakuan, kelompok (K2) tikus yang dipapar sinar UVB selama 3 hari dan diberi *base cream* selama 3 hari, Kelompok (K3) tikus yang dipapar sinar UVB selama 3 hari dan diberi cream ekstrak daun sawo 25 % selama 3 hari, dan kelompok (K4) tikus yang dipapar sinar UVB selama 3 hari dan diberi cream ekstrak daun sawo 50 % selama 3 hari. Pemeriksaan dilakukan hari ke 7 menggunakan jaringan kulit dengan metode ELISA untuk mengukur kadar IL-6 dan TGF- β .

5.1 Hasil Penelitian

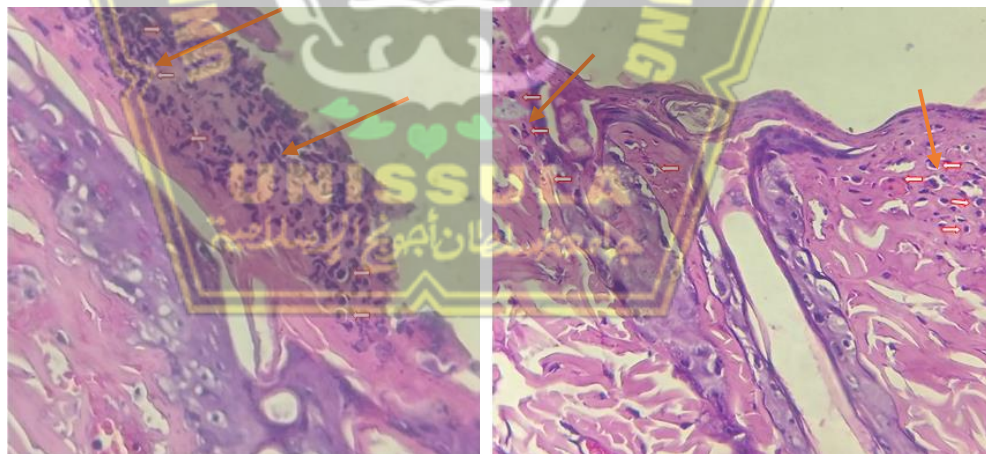
5.1.1 Hasil analisis kadar flavonoid dan total fenol ekstrak daun sawo

Hasil uji kandungan flavonoid ekstrak daun sawo (*Manilkara zapota*) dengan menguji kadar flavonoid dan total fenol. Hasil rata-rata kadar flavonoid

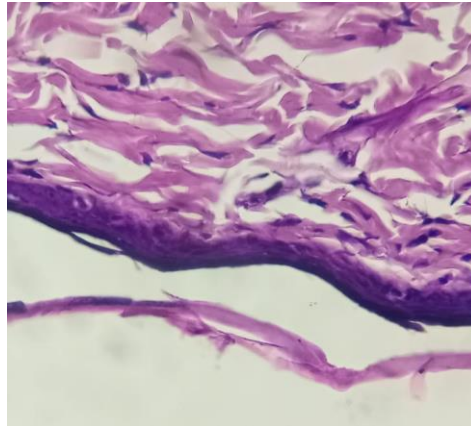
ekstrak daun sawo (*Manilkara zapota*) sebesar 56,8 mg/ml, sedangkan rata-rata kandungan fenol sediaan ekstrak daun *Manilkara zapota* sebesar 170,1 mg/ml. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun Sawo positif mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, glikosida, tanin dan saponin. ³³

5.1.2 Hasil validasi pewarnaan *Hematoxilin eosin* (HE) jaringan kulit tikus yang mengalami *sunburn*

Hasil pengamatan pada sampel dengan model tikus yang diberi paparan sinar UVB, paparan UV *light* (*broadband* dengan peak emission 302 nm) dengan dosis erythema 160 mJ/cm²/hari selama 3 hari. Hari berikutnya (hari ke 7) sampel jaringan kulit diambil untuk dibuat pewarnaan H&E. Hasil Analisis pada kelompok perlakuan terdapat *sunburn cell* pada panah kuning sedangkan pada kelompok kontrol tidak ditemukan *sunburn cell*, seperti pada gambar 5.1 berikut:



Gambar 5.1 Hasil pewarnaan H&E kelompok perlakuan dengan perbesaran 40x.



Gambar 5.2 Hasil pewarnaan H&E kelompok kontrol dengan perbesaran 40x

5.1.3 Hasil pemeriksaan Kadar IL-6 pada tikus yang dipapar UVB

Hasil pemeriksaan rata-rata kadar IL-6, setelah perlakuan dengan pemberian *cream* ekstrak daun *Manilkara zapota* selama 3 (hari ke 4 sampai hari ke 6), hari ke 7 jaringan kulit tikus *Wistar* diambil untuk dianalisa kadar IL-6 dengan metode ELISA. Hasil pemeriksaan rata-rata kadar IL-6 pada masing-masing kelompok ditunjukkan pada tabel 5.1 berikut:

Tabel 5.1 Hasil uji deskriptif dan *One way Anova* kadar IL-6

Kelompok	K1 Tanpa perlakuan	K2 <i>Base cream</i>	K3 <i>cream</i> Dosis 25%	K4 <i>cream</i> Dosis 50%	<i>P value</i>
Kadar IL-6 (ng/L)					
<i>Wistar</i> 1	9.59	10.23	12.45	8.61	
<i>Wistar</i> 2	10.76	10.34	9.83	8.94	
<i>Wistar</i> 3	11.16	8.37	8.79	8.37	
<i>Wistar</i> 4	9.07	10.05	10.89	10.39	
<i>Wistar</i> 5	11.9	11.48	9.75	9.71	
<i>Wistar</i> 6	9.91	10.16	9.25	9.26	
Mean	10,39	10,10	10,16	9,21	
SD	±1,06	±0,99	±1,32	±0,74	
<i>Shapiro-Wilk</i>	*0,89	*0,25	*0,42	*0,83	
<i>Leuvene Test</i>					*0.54
<i>One way Anova</i>					0,25

Keterangan: * *Shapiro-Wilk* = Normal ($p > 0,05$)
 * *Leuvene Test* = Homogen ($p > 0,05$)
 * *One way Anova* = Signifikan ($p < 0,05$)

Rata-rata kadar IL-6 dengan metode ELISA, hasil kadar tertinggi terdapat pada kelompok K1 dan kadar terendah pada kelompok K4. Terjadi tren penurunan kadar IL-6 dengan pemberian cream ekstrak daun *Manilkara zapota* dosis 50% yang masih harus dibuktikan dengan uji statistik untuk melihat perbedaan secara bermakna atau tidak.



Gambar 5.3 Grafik rata-rata kadar IL-6 antar kelompok

Analisis deskriptif untuk menentukan normalitas data dengan uji *Shapiro-Wilk* diketahui semua kelompok terdistribusi normal ($p > 0,05$), dan menentukan homogenitas data dengan uji *Leuvene Test* didapatkan hasil 0,54 ($p > 0,05$) yang berarti sebaran data kadar IL-6 antar kelompok memiliki varian data homogen. Rata-rata kadar IL-6 yang normal dan homogen dilakukan uji beda *One way Anova* didapatkan hasil 0,25 ($P < 0,05$). Dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan rata-rata kadar IL-6 antar kelompok perlakuan.

5.1.4 Hasil pemeriksaan Kadar TGF- β pada tikus yang dipapar UVB

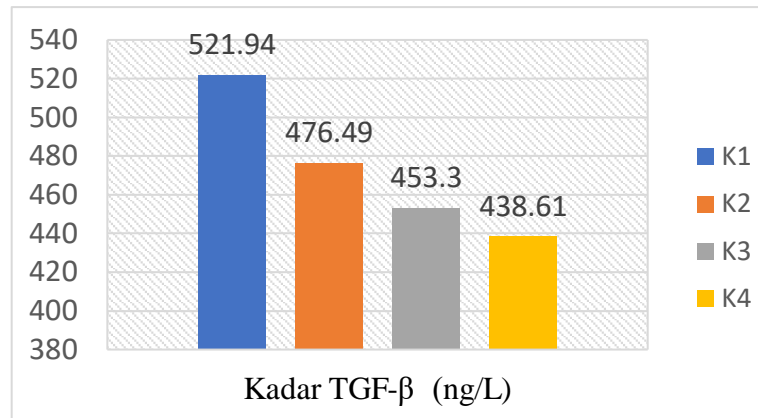
Hasil pemeriksaan rata-rata kadar TGF- β pada masing-masing kelompok dengan metode ELISA menggunakan sampel jaringan kulit tikus, ditunjukkan pada Tabel 5.2 berikut:

Tabel 5.2 Hasil uji deskriptif dan *One way Anova* kadar TGF- β

Kelompok	K1 Tanpa perlakuan	K2 Base cream	K3 cream Dosis 25%	K4 cream Dosis 50%	P value
Kadar TGF-β (ng/L)					
Tikus 1	506.39	460.07	436.22	387.13	
Tikus 2	567.10	428.01	440.02	490.39	
Tikus 3	500.76	485.14	518.29	459.91	
Tikus 4	527.34	509.21	430.69	360.16	
Tikus 5	511.37	477.15	424.87	463.05	
Tikus 6	518.71	499.36	469.76	471.05	
Mean	521,94	476,49	453,30	438,61	
SD	24,01	29,29	35,44	52,13	
<i>Shapiro-Wilk</i>	*0,13	*0,77	*0,07	*0,16	
<i>Leuvene Test</i>					*0,11
<i>One way Anova</i>					0,005

Keterangan: * *Shapiro-Wilk* = Normal ($p > 0,05$)
 * *Leuvene Test* = Homogen ($p > 0,05$)
 * *One way Anova* = Signifikan ($p < 0,05$)

Rata-rata kadar TGF- β didapat hasil kadar tertinggi pada kelompok K1 dan terendah pada kelompok K4. Terjadi penurunan kadar TGF- β dengan pemberian cream ekstrak daun *Manilkara zapota* pada dosis 50%.



Gambar 5. 4 Grafik rata-rata kadar TGF-β antar kelompok perlakuan

Uji deskriptif penentuan normalitas kadar rata-rata TGF-β dengan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan hasil tiap kelompok terdistribusi normal ($p > 0,05$), dan penentuan homogenitas data dengan uji *Leuvene Test* didapatkan hasil 0,106 ($p > 0,05$) hasil menunjukkan data kadar TGF-β antar kelompok memiliki sebaran data yang homogen. Rata-rata kadar TGF-β terdistribusi normal dan homogen memenuhi syarat untuk dilakukan uji *One way Anova*. Hasil uji *One way anova* menunjukkan nilai yang signifikan 0,005 ($P < 0,05$). Sehingga disimpulkan terdapat perbedaan yang bermakna rata-rata kadar TGF-β antar kelompok.

Hasil uji *One way anova* yang bermakna dilakukan uji *Post Hoc Tests* untuk melihat perbedaan antar kedua kelompok dan mendapatkan dosis yang paling berpengaruh anatar kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Komparasi tiap kelompok dengan uji *Post Hoc Test* sebagai berikut:

Tabel 5.3 Hasil uji *Post Hoc Tests* kadar TGF-β

Kelompok	K1	K2	K3	K4
K1		*0,045	*0,004	*0,001
K2			0,228	0,090
K3				0,497

Keterangan: * Bermakna $p < 0,05$

Hasil uji *Post Hoc LSD* menunjukkan bahwa perbedaan rata-rata kadar TGF- β antar kelompok pada grafik 5.3, didapatkan hasil pemberian *cream* ekstrak daun *Manilkara zapota* dosis 50% memiliki pengaruh paling signifikan terhadap kadar TGF- β dengan nilai 0,001 ($p < 0,05$). Dapat disimpulkan bahwa *cream* ekstrak daun *Manilkara zapota* memberikan pengaruh terhadap kadar TGF- β antar kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok perlakuan pada dosis 50% yang memberikan pengaruh paling signifikan.

5.2 Pembahasan

Analisis yang dilakukan untuk mengamati pengaruh dari *cream* ekstrak daun sawo (*Manilkara zapota*) dalam memperbaiki kondisi kulit yang mengalami *Sunburn* akibat paparan UV. *Sunburn cell* (SCs) adalah luka bakar akibat radiasi pada kulit yang disebabkan oleh terlalu banyak paparan sinar UV, Faktor risiko terbesar untuk sengatan matahari adalah jumlah waktu kulit terpapar sinar UV, ditambah intensitasnya. Keratinosit kulit pada SCs mengalami apoptosis menunjukkan ciri morfologi seperti inti piknotik dengan sitoplasma eosinofilik, pembengkakan mitokondria dan ruptur.³⁶

Paparan UV-B meningkatkan ROS yang berperan penting mengaktifkan jalur MAPK, menyebabkan peningkatan infiltrasi mediator inflamasi dan hiperplasia epidermal. Mediator inflamasi dilepaskan dari keratinosit, fibroblast, sel tumor, leukosit dan lapisan endotel pembuluh darah.^{19,12} Radiasi UV secara berlebihan mensekresikan sitokin pro inflamasi (IL-1, IL-6 dan TNF- α), dan IL-6 kadarnya dalam serum mencapai puncaknya sekitar 12 jam setelah penyinaran UVB. Peran

IL-6 dalam peradangan yang disebabkan oleh sinar UV-B, terlibat dalam produksi berbagai jenis matriks metalloproteinase (MMPs) dengan menstimulasi fibroblas. Peningkatan produksi IL-6 setelah iradiasi UV-B menyebabkan peningkatan ekspresi MMP1 dan MMP9, sehingga berkontribusi dalam degradasi matriks ekstraseluler.³⁶

Hasil penelitian menunjukkan tingkat kadar IL-6 tidak mengalami perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan, pemberian *cream* ekstrak daun sawo (*Manilkara zapota*) tidak memberikan pengaruh terhadap kadar IL-6 setelah paparan UVB selama tiga hari yang dilanjutkan dengan pemberian *cream* selama tiga hari. Penggunaan sampel jaringan kulit lokal juga tidak mengekspresikan IL-6 secara signifikan, berdasarkan lama pemaparan UVB, pengambilan jaringan kulit dilakukan pada hari ketujuh yang menunjukkan perbaikan sudah tidak di tahap inflamasi melainkan sudah berpindah ke tahap proliferasi sehingga menjadi penyebab kadar IL-6 yang tidak signifikan.^{34,35} Kandungan antioksidan pada *cream* ekstrak daun sawo juga mengintervensi penurunan kadar IL-6.

Berbeda dengan kadar TGF- β , Hasil penelitian menunjukkan penurunan kadar TGF- β pada kelompok *cream* dosis 25% dan 50%. Modulasi sinergis dengan meningkatkan kapasitas antioksidan, memodulasi jalur sinyal MAPK/AP-1/MMP-1 dan TGF- β /Smad, menstimulasi sintesis prokolagen tipe I, dan memulihkan struktur arsitektur yang rusak.³⁶ Radiasi UV-B menurunkan kandungan matriks ekstraseluler kulit baik karena perubahan sintesis kolagen atau degradasi kolagen.^{37,38} Aktivasi gen TGF- β bertanggung jawab untuk sintesis kolagen dermal.³⁶ Mekanisme di balik sintesis kolagen dermal melibatkan interaksi TGF- β

dengan kompleks reseptor permukaan sel TGF- β ((T β R I-III). Interaksi TGF- β dengan T β R II menghasilkan aktivasi aktivitas serin/treonin kinase T β RI, menghasilkan fosforilasi dan aktivasi Smad2 dan Smad3 (faktor transkripsi). Smad4, faktor transkripsi lain, dikombinasikan dengan Smad2 dan Smad3 terfosforilasi, membentuk kompleks yang bertranslokasi ke nukleus. Ini mengaktifkan gen TGF- β dengan mengikat daerah promotornya dan menginduksi sintesis kolagen. Radiasi UV-B menghasilkan aktivasi faktor transkripsi lain, Smad 7, yang mensinergikan aksi TGF- β , sehingga menghambat jalur pensinyalan TGF- β /Smad 2-3 dan menghalangi sintesis kolagen, sehingga meningkatkan kolagen kulit yang dihasilkan dan hilangnya integritas kulit.^{36,37}

Penelitian ini menunjukkan pemberian cream ekstrak daun sawo berpengaruh terhadap kadar TGF- β pada jaringan kulit tikus jantan galur *Wistar* yang dipapar sinar UV-B dan menggambarkan penurunan kadar IL-6 namun tidak signifikan. Penelitian selanjutnya dapat dilakukan bersamaan antara paparan UVB dengan pemberian *cream* ekstrak daun sawo, sehingga dapat membandingkan kadar TGF- β dan IL-6 pada *sunburn* yang diintervensi *cream* ekstrak daun sawo dengan waktu perlakuan yang lebih singkat. *Design* perlakuan dengan uji *pre* dan *post test* perlu dilakukan untuk memastikan perbedaan antar kelompok sebelum dan sesudah agar dapat mengurai penyebab terjadinya faktor lain yang mempengaruhi seperti faktor genetik dari subjek tikus dan lingkungannya.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

6.1.1. Pemberian krim ekstrak daun sawo (*Manilkara zapota*) tidak berpengaruh terhadap kadar IL-6 pada tikus wistar yang diinduksi UVB

6.1.2. Pemberian krim ekstrak daun sawo (*Manilkara zapota*) berpengaruh terhadap kadar TGF- β pada tikus wistar yang diinduksi UVB

6.2. Saran

6.2.1. Penelitian berikutnya melanjutkan dengan melakukan paparan UVB dan *cream* ekstrak daun sawo secara bersamaan dan mengamati perubahan kadar IL-6 dan TGF- β yang terjadi dengan waktu perlakuan yang lebih singkat lagi.

6.2.2. Melakukan uji *pre* dan *post test* kadar IL-6 dan TGF- β pada jaringan kulit yang dipapar UVB.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bosch R, Philips N, Suárez-Pérez JA, et al. Mechanisms of photoaging and cutaneous photocarcinogenesis, and photoprotective strategies with phytochemicals. *Antioxidants*. 2015;4(2):248-268. doi:10.3390/antiox4020248
2. Chiu HW, Chen CH, Chen YJ, Hsu YH. Far-infrared suppresses skin photoaging in ultraviolet B-exposed fibroblasts and hairless mice. *PLoS One*. 2017;12(3). doi:10.1371/journal.pone.0174042
3. Liu Y, Huang X, Wang P, et al. The effects of HSP27 against UVB-induced photoaging in rat skin. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019;512(3):435-440. doi:10.1016/j.bbrc.2019.03.076
4. Petruk G, Giudice R Del, Rigano MM, Monti DM. Antioxidants from plants protect against skin photoaging. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018. doi:10.1155/2018/1454936
5. Ke Y, Wang XJ. TGF β Signaling in Photoaging and UV-Induced Skin Cancer. *Journal of Investigative Dermatology*. 2021;141(4):1104-1110. doi:10.1016/j.jid.2020.11.007
6. Shah H, Rawal Mahajan S. Photoaging: New insights into its stimulators, complications, biochemical changes and therapeutic interventions. *Biomedicine and Aging Pathology*. 2013;3(3):161-169. doi:10.1016/j.biomag.2013.05.003
7. Gazyakan E, Hirche C, Engel H, Kneser U, Bigdeli AK. Skin Burn Associated with Photochemotherapy. *Ann Plast Surg*. 2018;80(4):344-346. doi:10.1097/SAP.0000000000001333
8. Noorbakhsh SI, Bonar EM, Polinski R, Amin MS. Educational Case: Burn Injury—Pathophysiology, Classification, and Treatment. *Acad Pathol*. 2021;8:23742895211057240. doi:10.1177/237428952110572
9. Ganguly A, Mahmud Z Al, Uddin MMN, Rahman SMA. In-vivo anti-inflammatory and anti-pyretic activities of Manilkara zapota leaves in albino Wistar rats. *Asian Pac J Trop Dis*. 2013;3(4):301-307. doi:10.1016/S2222-1808(13)60073-0
10. Guerra KC, Crane JS. *Sunburn*. StatPearls [Internet]; 2022.
11. Markiewicz-Gospodarek A, Koziol M, Tobiasz M, Baj J, Radzikowska-Büchner E, Przekora A. Burn Wound Healing: Clinical Complications, Medical Care, Treatment, and Dressing Types: The Current State of Knowledge for Clinical Practice. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(3):1338. doi:10.3390/ijerph19031338
12. Queirós CS, Freitas JP. Sun Exposure: Beyond the Risks. *Dermatol Pract Concept*. Published online October 31, 2019:249-252. doi:10.5826/dpc.0904a01
13. Hung M, Beazer IR, Su S, Bounsanga J, Hon ES, Lipsky MS. An Exploration of the Use and Impact of Preventive Measures on Skin Cancer. *Healthcare*. 2022;10(4):743. doi:10.3390/healthcare10040
14. Alrashood ST, Al-Asmari AK, Alotaibi AK, et al. Protective effect of lyophilized sapodilla (Manilkara zapota) fruit extract against CCl₄-induced

- liver damage in rats. *Saudi J Biol Sci.* 2020;27(9):2373-2379. doi:10.1016/j.sjbs.2020.05.010
15. Haghdoost F, Baradaran Mahdavi MM, Zolfaghari B, et al. The effect of *Quercus brantii* gall extract on burn wound healing in rat. *Iran J Basic Med Sci.* 2016;9(10):1144-1150.
 16. Trinh XT, Long NV, Van Anh LT, et al. A Comprehensive Review of Natural Compounds for Wound Healing: Targeting Bioactivity Perspective. *Int J Mol Sci.* 2022;23(17):9573. doi:10.3390/ijms 23179573
 17. Karle PP, Dhawale SC, Navghare V V., Shivpuje SS. Optimization of extraction conditions and evaluation of Manilkara zapota (L.) P. Royen fruit peel extract for in vitro α -glucosidase enzyme inhibition and free radical scavenging potential. *Futur J Pharm Sci.* 2021;7(1):151. doi:10.1186/s43094-021-00305-4
 18. Tribby CP, Julian AK, Oh AY, Perna FM, Berrigan D. Associations between ultraviolet radiation, tree cover and adolescent sunburns. *Int J Health Geogr.* 2020;19(1):59. doi:10.1186/s12942-020-00253-x
 19. Ciężyńska M, Olejniczak-Staruch I, Sobolewska-Sztychny D, Narbutt J, Skibińska M, Lesiak A. Ultraviolet radiation and chronic inflammation-molecules and mechanisms involved in skin carcinogenesis: A narrative review. *Life.* 2021;11(4). doi:10.3390/life11040326
 20. Luckett-Chastain LR, Gallucci RM. Interleukin (IL)-6 modulates transforming growth factor- β expression in skin and dermal fibroblasts from IL-6-deficient mice. *British Journal of Dermatology.* 2009;161(2):237-248. doi:10.1111/j.1365-2133.2009.09215.x
 21. Maverakis E, Miyamura Y, Bowen MP, Correa G, Ono Y, Goodarzi H. Light, including ultraviolet. *J Autoimmun.* 2010;34(3). doi:10.1016/j.jaut.2009.11.011
 22. Narazaki M, Kishimoto T. The Two-Faced Cytokine IL-6 in Host Defense and Diseases. *Int J Mol Sci.* 2018;19(11):3528. doi:10.3390/ijms19113528
 23. Uciechowski P, Dempke WCM. Interleukin-6: A Masterplayer in the Cytokine Network. *Oncology.* 2020;98(3):131-137. doi:10.1159/000505099
 24. Uciechowski P, Dempke WCM. Interleukin-6: A Masterplayer in the Cytokine Network. *Oncology (Switzerland).* 2020;98(3):131-137. doi:10.1159/000505099
 25. Reeve VE, Tyrrell RM, Allanson M, Domanski D, Blyth L. The role of interleukin-6 in UVA protection against UVB-induced immunosuppression. *Journal of Investigative Dermatology.* 2009;129(6):1539-1546. doi:10.1038/jid.2008.377
 26. DAUN SAWO.
 27. Siddiqui NH, Ali SA, Azhar I, Tarar OM, Mahmood ZA. Modulation of extraction variables of pectin from *Manilkarazapota* fruit peel, its bio characterization, and comparative study using dynamic light scattering studies. *Sep Sci Technol.* 2018;53(15):2427-2434. doi:10.1080/01496395.2018.1457695

28. Liu J, Ren SN, Li KX, Xu T, Niu YF, Shi C. The complete chloroplast genome sequence of *Manilkara zapota* (Linn.) van Royen. *Mitochondrial DNA Part B*. 2019;4(2):2127-2128. doi:10.1080/23802359.2019.1623122
29. Alrashood ST, Al-Asmari AK, Alotaibi AK, et al. Protective effect of lyophilized sapodilla (*Manilkara zapota*) fruit extract against CCl₄-induced liver damage in rats. *Saudi J Biol Sci*. 2020;27(9):2373-2379. doi:10.1016/j.sjbs.2020.05.010
30. Fayek NM, Shazly AH, Abdel Monem AR, Mossa MY, Meselhy MR. Chemical and biological study of *Manilkara zapota* (L.) Van Royen leaves (Sapotaceae) cultivated in Egypt. *Pharmacognosy Res*. 2012;4(2):85-91.
31. Chunchakant, Chaicharoenpong. Antityrosinase, Antioxidant, and Cytotoxic Activities of Phytochemical Constituents from *Manilkara zapota* L. Bark. *Molecules*. 2019;24(15):2798. doi:10.3390/molecules24152798
32. Puspitasari AD, Yuita NE, Sumantri S. KRIM ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN KOPI ARABIKA (*Coffea Arabica*). *Jurnal Ilmiah Teknosains*. 2017;3(2). doi:10.26877/jitek.v3i2.1884
33. Prihardini, Wiyono AS. Pengembangan Dan Uji Antibakteri Ekstrak Daun Sawo Manila (*Manilkara Zapota*) Sebagai Lotio Terhadap *Staphylococcus aureus* The Development And Antibacteria Test Of Manila Sapodilla Leaf (*Manilkara Zapota*) AS A LOTIO TO *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Wiyata*. 2019;2(1):87-92.
34. MacLeod AS, Mansbridge JN. The Innate Immune System in Acute and Chronic Wounds. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2016;5(2):65-78. doi:10.1089/wound.2014.0608
35. Larouche J, Sheoran S, Maruyama K, Martino MM. Immune regulation of skin wound healing: Mechanisms and novel therapeutic targets. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2018;7(7):209-231. doi:10.1089/wound.2017.0761
36. Tanveer MA, Rashid H, Tasduq SA. Molecular basis of skin photoaging and therapeutic interventions by plant-derived natural product ingredients: A comprehensive review. *Heliyon*. 2023;9(3). doi:10.1016/j.heliyon.2023.e13580
37. Zhang T, Wang XF, Wang ZC, et al. Current potential therapeutic strategies targeting the TGF- β /Smad signaling pathway to attenuate keloid and hypertrophic scar formation. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2020;129. doi:10.1016/j.biopha.2020.110287
38. Ghafouri-Fard S, Askari A, Shoorei H, et al. Antioxidant therapy against TGF- β /SMAD pathway involved in organ fibrosis. *J Cell Mol Med*. Published online January 1, 2023. doi:10.1111/jcmm.18052