

**PENGARUH KRIM EKSTRAK KEDELAI TERHADAP
KADAR TNF α DAN VEGF**

**(Studi Eksperimental *In Vivo* Pada Kulit Mencit BALB/c Yang
Dipapar Sinar UVB Sub Kronis)**

Tesis

untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat
Magister Ilmu Biomedik



Magister Ilmu Biomedik

Nurul Setyani

MBK 2118010266

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

2024

TESIS

**PENGARUH KRIM EKSTRAK KEDELAI TERHADAP
KADAR TNF α DAN VEGF**

**(Studi Eksperimental *In Vivo* Pada Kulit Mencit BALB/c Yang
Dipapar Sinar UVB Sub Kronis)**

disusun oleh

Nurul Setyani

MBK 2118010266

Yang dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 22 Agustus 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

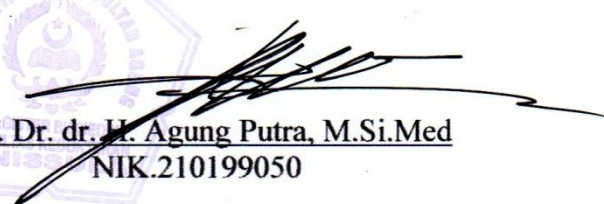


Prof. Dr. Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes
NIK. 220198045



Dr. Atina Husaana, M.Si, Apt
NIK. 8951110021

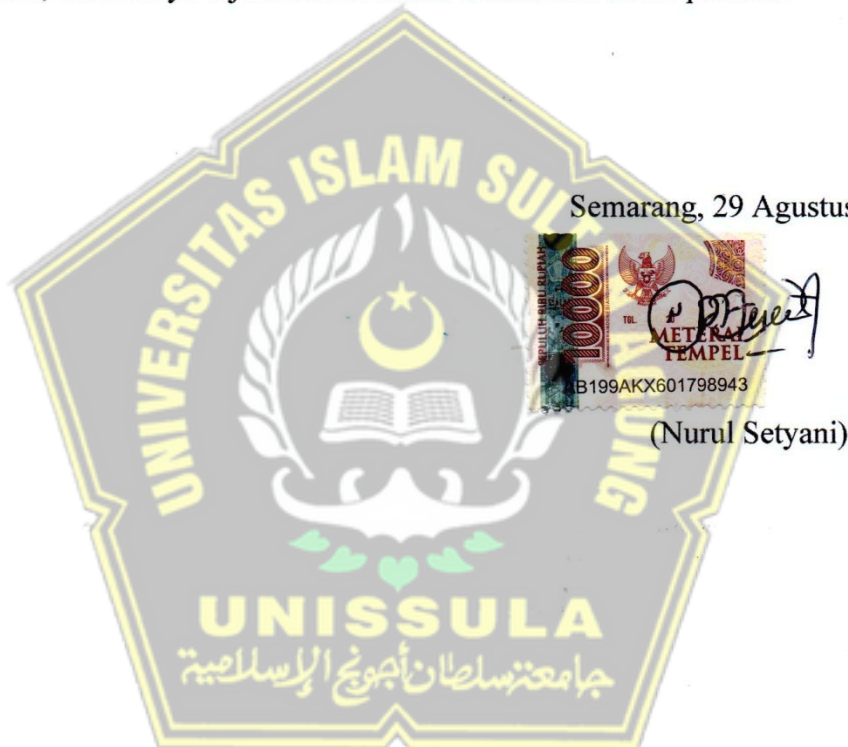
Mengetahui,
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung



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

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini 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.



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 KRIM EKSTRAK KEDELAI TERHADAP KADAR TNF α DAN VEGF (Studi Eksperimental *In Vivo* Pada Kulit Mencit BALB/c Yang Dipapar Sinar UVB Sub Kronis)**. Tesis ini diajukan sebagai bagian dalam memenuhi salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Magister (S2) Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

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

1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH., M. Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung beserta para wakil rektor yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh dan menyelesaikan pendidikan Magister Biomedik.
2. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H.,Sp.KF selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Prof. Dr. dr. H. Agung Putra, M.Si. Med selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang .

4. Prof. Dr. Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes selaku pembimbing I yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan tesis.
5. Dr. Atina Husaana, M. Si, Apt selaku pembimbing II yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan tesis.
6. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes selaku penguji I yang telah bersedia menilai, memberi masukan, dan pengarahan kepada penulis dalam penulisan tesis.
7. Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes selaku penguji II yang telah bersedia menilai, memberi masukan, dan pengarahan kepada penulis dalam penulisan tesis.
8. Dr. dr. Danis Pertiwi, M.Si.Med, SpPK selaku penguji III yang telah bersedia menilai, memberi masukan, dan pengarahan kepada penulis dalam penulisan tesis.
9. Seluruh tenaga pendidik dan staff administrasi Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang secara langsung atau tidak langsung telah memberi bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan penulisan tesis.
10. Kedua orang tuaku, Ibu Sri Karyani dan Bapak Souftiyan Danios. Terima kasih atas doa dan dukungannya selama ini. Semoga anakmu ini bisa menjadi anak yang membanggakan dan membahagiakan orang tua.

11. Suami tercinta, Agus Sudiaman Merdika terima kasih selalu mendukung dan mendoakan selama menempuh pendidikan ini. Anak-anakku tercinta, Elnino Kaif Andarust dan Lanina Shanum Andarust terima kasih atas pengertiannya, selalu menemani dan menjadi penyemangat untuk tetap bertahan dalam menyelesaikan pendidikan ini.
12. Sahabat-sahabat terbaikku, Nofrina, Raihana, Nikita, Ane, dan Cicil. Terima kasih untuk selalu memberikan semangat dan membantu dalam proses penyusunan tesis ini
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan dalam penyusunan tesis ini, terima kasih atas dukungannya.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan penelitian ini. Oleh karena itu, saran-saran yang membangun akan diterima sehingga penyusunan tesis ini lebih baik kedepannya.

Semarang, Agustus 2024



(Nurul Setyani)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
ABSTRAK.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan umum	3
1.3.2 Tujuan khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Teoretis	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
1.5 Originalitas Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i> (TNF- α).....	6
2.1.1 Definisi TNF- α	6
2.1.2 Jalur Aktivasi TNF- α	7
2.1.3 Peran TNF- α dalam photoaging.....	8
2.1.4 Metode Analisis TNF- α	9
2.2 <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (VEGF).....	11

2.2.1	Definisi VEGF	11
2.2.2	Jalur Aktivasi VEGF	11
2.2.3	Mekanisme Aksi VEGF	13
2.2.4	Peran VEGF dalam Photoaging	15
2.2.5	Metode Analisis VEGF	16
2.3	Kedelai	18
2.3.1	Toksonomi Kedelai	19
2.3.2	Kandungan pada Kedelai	19
2.4	Sinar UV	20
2.4.1	Dampak Sinar Ultraviolet B Terhadap Kulit	22
2.5	Kulit	22
2.6	<i>Photoaging</i>	24
2.6.1	Definisi <i>Photoaging</i>	24
2.6.2	Klasifikasi <i>Photoaging</i>	25
2.7	Efek Sinar UV terhadap TNF- α dan VEGF	26
2.8	Efek Ekstrak Kedelai terhadap TNF α dan VEGF	28
2.9	Krim	29
2.9.1	Definisi Krim	29
2.9.2	Jenis-Jenis Krim	29
2.9.3	Bahan-Bahan Pembuatan Krim	30
2.9.4	Kelebihan Penggunaan Krim	33
2.9.5	Kekurangan Penggunaan Krim	34
2.9.6	Jalur Penetrasi Obat Pada Kulit	35
BAB III	KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS ...	37
3.1	Kerangka Teori	37
3.2	Kerangka Konsep	40
3.3	Hipotesis	40
BAB IV	METODE PENELITIAN	41
4.1	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	41
4.2	Subyek dan Sampel Penelitian	42
4.2.1	Subyek penelitian	42

4.2.2 Sampel penelitian	42
4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	44
4.3.1 Variabel penelitian	44
4.3.2 Definisi operasional variabel.....	45
4.4 Peralatan Penelitian	46
4.4.1 Alat pembuatan ekstrak kedelai	46
4.4.2 Alat untuk pemeliharaan mencit	47
4.4.3 Alat pembuatan preparat	47
4.4.4 Alat untuk ELISA	48
4.5 Bahan Penelitian	48
4.6 Cara Penelitian.....	49
4.6.1 <i>Ethical Clearance</i>	49
4.6.2 Pembuatan Ekstrak.....	49
4.6.3 Pembuatan Krim.....	49
4.6.4 Perlakuan Paparan Sinar UVB Pada Mencit.....	50
4.6.5 Tahapan Penelitian Dilakukan Sebagai Berikut :	50
4.7 Tempat Penelitian	53
4.8 Analisis Data.....	53
4.9 Alur Penelitian.....	55
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	56
5.1 Hasil Penelitian.....	56
5.1.1 Hasil Analisis Kadar Flavonoid dan Fenol Ekstrak Kedelai.....	56
5.1.2 Tumor Necrotic Factor Alpha (TNF- α)	57
5.1.3 Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF).....	59
5.2 Pembahasan Hasil Penelitian.....	61
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	65
6.1 Kesimpulan.....	65
6.2 Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN.....	74

DAFTAR SINGKATAN

COX-2	: Siklooksigenase-2 inhibitor
DNA	: Deoxyribonucleic acid
ELISA	: Enzyne Linked Immunosorbent Assay
ERK	: Extracellular signal-regulated
H ₂ O ₂	: Hidrogen peroksida
HIF-1 α	: Hypoxia-Inducible Factor 1-alpha
IL	: Interleukin
MAPK	: Mitogen-actived Protein Kinases v
MED	: Minimal Erythema Dose
MMP	: Matriks Metalloproteinase
NF- κ B	: Nuclear Factor Kappa-B
NO	: Nitrid oxide
OH	: Hidroxil radikal
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PKC	: Protein Kinase C
ROS	: Reactive oxygen Species
Sp	: Specitify Protein
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor-alpha
UVA	: Ultra Violet A
UVB	: Ultra Violet B
UVC	: Ultra Violet V
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
WB	: Western Blotting

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian.....	5
Tabel 5.1. Data Hasil Analisis Kadar TNF- α	57
Tabel 5.2. Hasil Uji <i>Post Hoc</i> LSD Kadar TNF- α	59
Tabel 5.3. Data Hasil Analisis Kadar VEGF	59
Tabel 5.4. Hasil Uji <i>Mann Whitney</i> Kadar VEGF.....	60



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Pengaturan sinyal VEGF pada regulasi angiogenesis	15
Gambar 2.2.	Biji kedelai.....	18
Gambar 2.3.	Gambaran panjang sinar ultraviolet menembus lapisan kulit.....	21
Gambar 2.4.	Lapisan kulit normal, a) tampilan mikroskopik histologi jaringan kulit, (b) ilustrasi lapisan kulit	24
Gambar 2.5.	Jalur penetrasi obat pada kulit	36
Gambar 3.1.	Kerangka Teori.....	39
Gambar 3.2.	Kerangka Konsep	40
Gambar 4.1.	Rancangan Penelitian	41
Gambar 4.2.	Alur Penelitian.....	55
Gambar 5.1.	Rerata kadar TNF- α berbagai kelompok.....	58
Gambar 5.2.	Rerata kadar VEGF berbagai kelompok	60



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical Clearance</i>	73
Lampiran 2. Surat Keterangan Hewan Coba.....	74
Lampiran 3. Lampiran Uji Statistik Kadar TNF- α dan VEGF	76
Lampiran 4. Hasil Analisis Kadar VEGF Dengan Metode ELISA	83
Lampiran 5. Hasil Analisis Kadar TNF- α Dengan Metode ELISA.....	84
Lampiran 6. Hasil Skrining Fitokimia	85
Lampiran 7. Uji Kuantitatif Kedelai	86
Lampiran 8. Dokumentasi	87



ABSTRAK

Latar Belakang: Paparan UVB berlebihan menyebabkan kerusakan kulit, akibat adanya peningkatan kadar pro-inflamasi, salah satunya TNF- α dan menyebabkan penurunan VEGF. Krim ekstrak kedelai memiliki kandungan isoflavon dan fenol yang berpotensi sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh krim ekstrak kedelai terhadap kadar TNF- α dan VEGF yang dipapar sinar UVB sub kronis.

Metode: Jenis penelitian eksperimental rancangan *post test only control group*. Terdapat 30 mencit BALB/c yang dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu K1 (kelompok sehat), K2 (mencit dipapar sinar UVB tanpa perlakuan), K3 (mencit dipapar sinar UVB dan diberi krim vitamin E), K4 (mencit dipapar sinar UVB dan diberi krim ekstrak kedelai 10%), dan K5 (mencit dipapar sinar UVB dan diberi krim ekstrak kedelai 20%). Mencit dipapar UVB 1 MED selama 8 menit sebanyak sepuluh kali dalam empat belas hari dan hari ke lima belas mencit dilakukan terminasi untuk pengambilan sampel jaringan kulit. Jaringan kulit mencit yang terpapar sinar UVB dianalisis menggunakan metode ELISA untuk menilai kadar TNF- α dan VEGF.

Hasil: Kadar TNF- α pada K4 (627 ± 44 pg/mL) dan K5 (551 ± 130 pg/mL) lebih rendah dibandingkan kontrol positif (916 ± 134 pg/mL). Kadar VEGF pada K4 ($313,9 \pm 101,39$ pg/mL) dan K5 ($722 \pm 57,67$ pg/mL) lebih tinggi dibandingkan kontrol positif ($145,04 \pm 26,57$ pg/mL). Data kadar TNF- α diuji dengan *One Way Anova* dan kadar VEGF diuji dengan *Kruskal Wallis*, memberikan hasil ada perbedaan signifikan berbagai kelompok ($p < 0,05$)

Kesimpulan: Krim ekstrak kedelai berpengaruh terhadap kadar TNF- α dan VEGF pada kulit mencit BALB/c yang dipapar sinar UVB sub kronis.

Kata kunci : UVB, ekstrak kedelai, TNF- α , VEGF

ABSTRACT

Background: Excessive UVB exposure causes skin damage, due to increased levels of pro-inflammatories, one of which is TNF- α and causes a decrease in VEGF. Soy extract cream contains isoflavones and phenols which have the potential to act as antioxidants and anti-inflammatories. The aim of this study was to determine the effect of soy extract cream on TNF- α and VEGF levels when exposed to sub-chronic UVB light.

Method: Type of experimental research design post test only control group. There were 30 BALB/c mice divided into 5 groups, namely K1 (healthy group), K2 (mice exposed to UVB light without treatment), K3 (mice exposed to UVB light and given vitamin E cream), K4 (mice exposed to UVB light and given 10% soy extract cream, and K5 (mice exposed to UVB light and given 20% soy extract cream). Mice were exposed to UVB 1 MED for 8 minutes ten times in fourteen days and on the fifteenth day the mice were terminated for taking skin tissue samples. Mice skin tissue exposed to UVB light was analyzed using the ELISA method to assess levels of TNF- α and VEGF.

Results: TNF- α levels in K4 (627 ± 44 pg/mL) and K5 (551 ± 130 pg/mL) were lower than the positive control (916 ± 134 pg/mL). VEGF levels in K4 (313.9 ± 101.39 pg/mL) and K5 (722 ± 57.67 pg/mL) were higher than the positive control (145.04 ± 26.57 pg/mL). Data on TNF- α levels were tested by One Way Anova and VEGF levels were tested by Kruskal Wallis, giving results that there were significant differences between groups ($p < 0.05$)

Conclusion: Soy extract cream has an effect on TNF- α and VEGF levels in the skin of BALB/c mice exposed to sub-chronic UVB light.

Keywords: UVB, soybean extract, TNF- α , VEGF

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Indonesia merupakan negara tropis yang terletak di garis khatulistiwa dengan intensitas paparan sinar matahari sepanjang tahun. Radiasi sinar ultraviolet dari sinar matahari yang berlebihan dapat menimbulkan masalah kesehatan. Sinar UVB memiliki panjang gelombang 280-320 nm yang dapat menembus lapisan epidermis hingga dermis stratum papilaris yang mengakibatkan peradangan (*sunburn*), *photoaging*, fotokarsinogenesis, dan imunosupresi. Sinar UVB menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS) yang menyebabkan kerusakan DNA dan mengaktifasi sitokin proinflamasi, salah satunya *tumor necrosis factor- α* (TNF α). TNF α merupakan respon adanya kerusakan jaringan.¹ *Sunburn* menyebabkan dilatasi pembuluh darah dan merusak sel-sel endotel pembuluh darah sehingga mengurangi kemampuan sel untuk mendapatkan oksigen (hipoksia). *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) berperan penting dalam meningkatkan permeabilitas pembuluh darah dan mempromosikan angiogenesis. Angiogenesis merupakan proses pembentukan pembuluh darah baru dari pembuluh darah yang sudah ada berperan sebagai respon awal kerusakan kulit karena paparan sinar UVB.²

Kerusakan kulit akibat dampak sinar UVB dapat diatasi dengan penggunaan kosmeseutikal dengan menggabungkan manfaat kosmetik dan terapeutik pada kulit. Kosmeseutikal terbuat dari bahan sintesis maupun organik

yang memberikan manfaat perlindungan pada kulit dan memperbaiki kulit sehingga menunjang penampilan kulit tampak sehat. Kosmeseutikal yang mengandung bahan sintesis dapat memberikan efek samping seperti iritasi kulit, kontak alergi, kulit kering, kulit tipis dan menjadi sensitif terhadap sinar UV.³ Kosmeseutikal umumnya menggunakan sediaan bentuk semi-padat yaitu krim, karena teksturnya ringan tidak lengket, mudah diaplikasikan pada kulit, mudah menyerap dalam kulit, dan sebagai penghantaran obat lokal.⁷⁷

Bahan alami saat ini mulai dikembangkan berdasarkan besarnya minat masyarakat dan relatif aman untuk kulit. Pengembangan bahan alami saat ini sudah sampai pada penggunaan kedelai. Kedelai memiliki komponen bioaktif salah satunya isoflavon, yang memiliki efektivitas sebagai fotoproteksi, antioksidan, antiinflamasi, antikarsinogen dan anti aging.⁴ Menurut penelitian pemberian oral ekstrak kedelai 100 mg/kgBB/hari yang memiliki kandungan bioaktif isoflavon terbukti sebagai antioksidan dan menghambat produksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF α .⁵ Penelitian lain membuktikan bahwa pemberian oral kombinasi ekstrak kedelai dosis 10 mg dan *Phaleria macrocarpa* dosis 0,14 mg/hari mampu menurunkan produksi TNF α dan VEGF.⁶

Penelitian ini diharapkan dapat membuktikan adanya manfaat fotoproteksi, antioksidan, dan antiinflamasi sehingga dapat menurunkan insidensi risiko gangguan kulit karena riwayat paparan sinar matahari yang tinggi. Secara epidemiologi kerusakan kulit akibat paparan sinar UVB sering terjadi pada tipe kulit *fitzpatrick* I-III.⁷ Penelitian di Australia dan New Zealand menunjukkan bahwa 1.400 dari 2.095 subjek mengalami *photoaging*, sebagian besar 83%

mengalami *photoaging* berat. Di Indonesia terutama di Jakarta, penelitian menunjukkan 78 dari 136 subjek usia 18-21 tahun mengalami penuaan dini akibat paparan sinar matahari dan penelitian lain menunjukkan bahwa *sunburn* akibat UV masih dapat terjadi bahkan dengan penggunaan tabir surya.^{8,9}

Penelitian *in vivo* telah membuktikan bahwa pemberian ekstrak kedelai secara sistemik dapat menurunkan produksi TNF α dan meningkatkan VEGF, tetapi pemberian secara topikal perlu diteliti lebih lanjut untuk mengetahui pengaruhnya terhadap kadar TNF α dan VEGF. Berdasarkan kajian di atas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh krim ekstrak kedelai dengan dua dosis, yaitu 10% dan 20% terhadap kadar TNF α dan kadar VEGF pada kulit mencit BALB/c yang dipapar sinar UVB sub kronis.

1.2 Rumusan masalah

Apakah krim ekstrak kedelai berpengaruh terhadap kadar TNF α dan kadar VEGF kulit mencit BALB/c yang dipapar sinar UVB sub kronis.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Mengetahui pengaruh krim ekstrak kedelai terhadap kadar TNF α dan kadar VEGF pada kulit mencit BALB/c yang dipapar sinar UVB sub kronis.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Mengetahui perbedaan kadar TNF α pada kulit mencit BALB/c yang dipapar sinar UVB sub kronis dan diberi krim ekstrak kedelai 10% dan 20% antar kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok

kontrol.

2. Mengetahui perbedaan kadar VEGF pada kulit mencit BALB/c yang dipapar sinar UVB sub kronis dan diberi krim ekstrak kedelai 10% dan 20% antar kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoretis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan teori mengenai peranan krim ekstrak kedelai terhadap kadar TNF α dan kadar VEGF pada kulit mencit BALB/c yang dipapar sinar UVB sub kronis.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini bermanfaat untuk memberi ilmu pengetahuan pada masyarakat tentang manfaat penggunaan ekstrak kedelai untuk menunjang kesehatan kulit akibat paparan sinar UV.

1.5 Originalitas Penelitian

Berdasarkan penelusuran literatur, saat ini belum ada penelitian yang menilai pengaruh pemberian krim ekstrak kedelai terhadap kadar TNF α dan kadar VEGF yang dipapar sinar UVB pada kulit mencit BALB/c. Berikut penelitian yang berkaitan dengan pengaruh penggunaan ekstrak kedelai :

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian

No	Peneliti	Judul	Metode	Hasil Penelitian
1	Cho, Y.-C., Han, J.- B., & Park, S.- I, 2019.	<i>Photoprotective Effect of Soybean Extract against UV-Induced Damage in Human Fibroblast and Hairless Mouse Model</i>	<i>Eksperimental</i>	Pertumbuhan fibroblas dan ekspresi sitokin proinflamasi seperti TNF α secara bermakna dihambat dengan pemberian oral ekstrak kedelai pada tikus yang dipaparkan UVB
2	Sumarawati, Chodidjah, Dina, 2023	<i>Effect of combination of soybean and Phaleria macrocarpa ethanol extract on IL6, TNFα, VEGF and fibroblast in Mice Exposed to UVB</i>	<i>Eksperimental</i>	Pemberian oral kombinasi kedelai dan Phaleria macrocarpa dapat menurunkan jumlah fibroblast dan produksi TNF α dan VEGF
3	Waqas, Akhtar, Rasul, Rashid, Mustafa, Khan, Murtaza, 2014	<i>In vivo Evaluation of a Cosmetic Emulsion Containing Soybean Extract for Anti-Aging</i>	<i>Eksperimental</i>	Kosmetik Ekstrak kedelai topical berdampak pada elastisitas ketebalan kulit dan kelembaban kulit dan potensial memiliki efek anti aging.
4	Polito, Marini, Bitto, Irrera, Vaccaro, 2011	<i>Genistein aglycone, a soy derived isoflavone improves skin changes induced by ovariectomy in rats</i>	<i>Eksperimental</i>	Pemberian oral genistein aglycone 1mg/kg berpengaruh meningkatkan ketebalan kolagen, menghambat penurunan TGF- β 1, VEGF, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, dan TIMP-2

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α)

2.1.1 Definisi TNF- α

Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) adalah sitokin yang termasuk dalam keluarga protein sitokin TNF. Secara kimiawi, TNF- α merupakan protein yang terdiri dari 157 asam amino dengan berat molekul sekitar 17 kDa.¹⁰ Struktur protein ini ditentukan oleh urutan asam amino yang diatur oleh gen TNF- α , dan tidak memiliki rumus kimia yang spesifik karena merupakan protein kompleks. Ikatan kimia dalam struktur TNF- α melibatkan ikatan non-kovalen yang penting dalam aktivitas biologisnya, termasuk interaksi dengan reseptor permukaan sel dan pengaturan respons peradangan dalam tubuh manusia.¹¹

Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) memiliki peran kunci dalam regulasi respon imun dan peradangan dalam tubuh manusia. Dalam kondisi normal, TNF- α diproduksi oleh berbagai jenis sel, terutama sel-sel makrofag dan limfosit T, sebagai respons terhadap infeksi, kerusakan jaringan, atau rangsangan inflamasi. Peran utama TNF- α adalah sebagai mediator dalam aktivasi respons peradangan, memicu pelepasan sitokin lain seperti IL-1 dan IL-6, merangsang ekspresi molekul adhesi.¹²

Menurut penelitian terdahulu, kadar TNF- α yang tidak seimbang dapat menjadi faktor risiko dan terlibat dalam berbagai kondisi penyakit. Kelebihan TNF- α berkaitan dengan penyakit peradangan kronis, seperti

arthritis rheumatoid, penyakit radang usus, dan psoriasis.¹³ Selain itu, TNF- α juga terlibat dalam mekanisme patofisiologi penyakit autoimun sehingga penghambatan aktivitas TNF- α menjadi target dalam pengobatan beberapa penyakit autoimun seperti *arthritis rheumatoid* dan penyakit radang usus kronis. Terapi anti-TNF telah digunakan untuk mengurangi gejala dan memperlambat perkembangan penyakit ini dengan mengurangi peradangan dan kerusakan jaringan.¹⁴ Protein ini juga dilaporkan mempengaruhi beberapa kondisi kanker, seperti memicu proliferasi sel tumor, angiogenesis, serta resistensi terhadap apoptosis.¹⁵

Penggunaan terapi mentarget TNF- α dalam pengobatan juga memiliki beberapa efek samping yang perlu diperhatikan, termasuk risiko infeksi yang meningkat dan reaksi imunologis lainnya. Selain itu, penggunaan jangka panjang dari terapi anti-TNF dapat meningkatkan risiko kanker tertentu.¹⁶

2.1.2 Jalur Aktivasi TNF- α

Proses aktivasi TNF- α dimulai dengan stimulasi seluler oleh berbagai rangsangan, seperti infeksi, kerusakan jaringan, atau peradangan. Saat terjadi peradangan, dalam fase inflamasi akan mengaktifkan makrofag. Makrofag terdiri dari dua tipe, yaitu makrofag tipe 1 (M1) dan makrofag tipe 2 (M2). Makrofag tipe 1 mensekresikan sitokin proinflamasi, yaitu TNF- α , IL-1 dan IL-6 yang memiliki kadar tinggi saat terjadinya inflamasi. Makrofag tipe 1 diinduksi oleh lipopolisakarida (LPS) dan *interferon-gamma* (IFN- γ).⁸⁷ Limfosit dan sel

epitel juga menghasilkan prekursor TNF- α yang tidak aktif yang disebut pro-TNF- α . Stimulus tertentu, seperti paparan bakteri atau sitokin lain, mengaktifkan jalur-jalur sinyal intraseluler tertentu seperti jalur NF- κ B dan MAPK. Aktivasi jalur ini menyebabkan transkripsi gen TNF- α dan sintesis prekursor TNF- α . Pro-TNF- α yang dihasilkan tidak aktif secara intraseluler dan diangkut ke permukaan sel. Enzim seperti metaloproteinase disintegrin yang diaktifkan memotong pro-TNF- α menjadi bentuk yang aktif, yaitu TNF- α yang dapat dilepaskan.

Setelah dilepaskan, TNF- α berinteraksi dengan reseptor TNF- α pada sel target, memicu serangkaian respons seluler, seperti aktivasi NF- κ B, produksi sitokin lain, dan perubahan genetik yang mengatur respons imun, peradangan, dan apoptosis.¹⁷ Proses aktivasi TNF- α ini penting dalam regulasi respons peradangan dan imun, namun ketidakseimbangan dalam produksi dan aktivasi TNF- α dapat berkontribusi pada patologi penyakit peradangan dan autoimun, serta mempengaruhi proses kanker dan penuaan.¹¹

2.1.3 Peran TNF- α dalam photoaging

Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) memainkan peran penting dalam proses *photoaging* yang disebabkan oleh paparan sinar UV. Paparan sinar UV menginduksi produksi TNF- α dalam kulit, memicu respons peradangan yang menyebabkan kerusakan struktural dan klinis pada kulit. Protein ini merangsang produksi enzim MMP, terutama MMP-1, yang bertanggung jawab atas degradasi kolagen, protein struktural utama kulit.

Proses ini mengakibatkan kehilangan elastisitas dan kekencangan kulit serta pembentukan garis halus dan kerutan pada kulit, ciri khas dari *photoaging*. Selain itu, TNF- α juga memicu produksi radikal bebas dan stres oksidatif dalam kulit, yang berkontribusi pada kerusakan seluler dan percepatan proses penuaan kulit.¹⁸

2.1.4 Metode Analisis TNF- α

Analisis TNF- α adalah kunci dalam memahami peran serta respons seluler dan molekuler dalam kondisi peradangan, autoimun, dan kanker. Beberapa metode analisis yang umum digunakan termasuk ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), *Western Blotting* (WB), *Flow Cytometry*, PCR (*Polymerase Chain Reaction*), dan teknik pewarnaan (*staining*).¹⁹

a. ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

Metode ini memanfaatkan interaksi antara TNF- α dengan antibodi spesifik yang terikat pada plat ELISA. Deteksi dilakukan dengan enzim yang dapat menghasilkan sinyal, kemudian diukur secara spektrofotometri. ELISA dapat mendeteksi dan mengukur konsentrasi TNF- α dalam sampel.²⁰

b. *Western Blotting* (WB)

Western Blotting digunakan untuk mendeteksi dan mengkonfirmasi keberadaan TNF- α dalam sampel protein. Proses ini melibatkan pemisahan protein dengan elektroforesis, transfer protein ke membran, blokir membran, inkubasi dengan antibodi, dan deteksi menggunakan

antibodi spesifik terhadap TNF- α .²¹

c. *Flow Cytometry*

Metode ini memungkinkan analisis sel tunggal dalam sampel yang kompleks. Dengan menggunakan antibodi fluoresen yang spesifik terhadap TNF- α , *flow cytometry* memungkinkan pemisahan dan analisis kuantitatif serta kualitatif TNF- α pada seluler spesifik.²²

d. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Metode PCR memungkinkan amplifikasi DNA yang mengkode TNF- α dari sampel genetik. Melalui amplifikasi, keberadaan TNF- α dapat dideteksi dan diukur secara kuantitatif dalam sampel DNA.²³

e. *Staining immunohistochemistry / immunofluorescence*

Teknik *staining* histologis atau imunohistokimia untuk menilai secara visualisasi TNF- α di Tingkat jaringan atau sel. Imunohistokimia sering diterapkan dalam penelitian bidang biomedis pada pengembangan obat terkini dan sebagai biomarker prognostik.²⁴

Setiap metode memiliki kelebihan dan batasan. ELISA dan PCR umumnya digunakan untuk deteksi dan kuantifikasi TNF- α dalam sampel cair, sementara WB, *flow cytometry*, dan teknik pewarnaan memberikan informasi tentang lokasi dan distribusi TNF- α dalam sel atau jaringan.²⁵ Namun demikian, seiring perkembangan teknologi, ELISA dapat digunakan untuk menganalisis protein pada sampel jaringan dengan cara melakukan homogenisasi jaringan terlebih dahulu.²⁶

2.2 *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF)

2.2.1 Definisi VEGF

Kelompok sitokin *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) berperan dalam mengatur pertumbuhan dan proliferasi pembuluh darah. Berdasarkan ukuran molekul, VEGF merupakan protein yang cukup besar dengan berbagai isoform yang berat molekulnya bervariasi dari 20 hingga 45 kDa, tergantung pada isoformnya.²⁷

Secara kimiawi, VEGF adalah glikoprotein yang terdiri dari sejumlah besar asam amino serta memiliki sifat ikatan kimia kompleks dengan berbagai struktur glikosilasi yang berkaitan dengan perannya dalam proliferasi dan diferensiasi sel endotel. VEGF merupakan protein kompleks yang dihasilkan dari ekspresi gen VEGF.²⁸ Protein VEGF berperan penting dalam proses angiogenesis, merangsang pembentukan dan proliferasi pembuluh darah baru. Protein ini juga terlibat dalam regulasi proliferasi sel dan respons imun pada kulit sehingga menjadi target dalam beberapa terapi kecantikan.²⁹

2.2.2 Jalur Aktivasi VEGF

Proses produksi VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) merupakan serangkaian tahapan kompleks dalam regulasi pertumbuhan dan pembentukan pembuluh darah. Makrofag tipe 2 (M2) merupakan penghasil sitokin antiinflamasi seperti IL-10 dan TGF- β (*Transforming Growth Factor-Beta*) yang mendukung proses penyembuhan dan perbaikan jaringan. Makrofag tipe 2 juga berperan dalam memproduksi

faktor pertumbuhan, salah satunya VEGF yang berperan terjadinya angiogenesis untuk mendapatkan suplai darah dan oksigen yang cukup untuk terjadinya regenerasi jaringan pada fase proliferasi.^{2,87} Produksi VEGF dimulai dari aktivasi berbagai jalur sinyal di tingkat seluler, terutama dalam respons terhadap kondisi seperti hipoksia atau kekurangan oksigen. Faktor-faktor seperti hipoksia mengaktifkan faktor transkripsi kunci, seperti HIF-1 α (*Hypoxia-Inducible Factor 1-alpha*), yang terlibat langsung dalam regulasi ekspresi gen VEGF.³⁰

Aktivasi HIF-1 α , yang terjadi terutama dalam kondisi hipoksia atau kekurangan oksigen, berperan penting dalam regulasi ekspresi gen VEGF-A. Faktor transkripsi HIF-1 α berikatan dengan wilayah promotor gen VEGF-A sehingga memicu merangsang transkripsi gen tersebut. VEGF-A merupakan isoform paling umum dalam keluarga VEGF dan memiliki peran vital dalam regulasi angiogenesis.³¹ Namun, selain HIF-1 α , faktor-faktor transkripsi lain seperti *Specificity Protein* (Sp) 1 dan Sp3 juga turut berkontribusi dalam pengaturan tingkat ekspresi gen VEGF. Faktor transkripsi Sp1 dan Sp3 berikatan dengan sekuen DNA di wilayah promotor VEGF, mempengaruhi aktivitas promotor sehingga meningkatkan produksi VEGF-A.³²

Proses produksi VEGF juga dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor eksternal, termasuk hormon, *growth factor*, dan sitokin.³³ Penelitian terdahulu melaporkan bahwa hormon steroid seperti kortisol dan faktor pertumbuhan seperti *Epidermal Growth Factor* (EGF) dapat

mempengaruhi produksi VEGF melalui pengaturan jalur aktivasi factor transkripsi tertentu yang terkait dengan transkripsi gen.³⁴

Berbagai jalur sinyal intraseluler seperti Ras/ERK (*Extracellular Signal-Regulated Kinase*), PI3K/Akt (*Phosphoinositide 3-Kinase/Akt*), dan jalur NF- κ B (*Nuclear Factor-kappa B*) juga dapat berkontribusi dalam modulasi ekspresi gen VEGF. Aktivasi jalur-jalur ini mempengaruhi kompleksitas produksi VEGF dalam respons terhadap berbagai rangsangan eksternal.³⁵

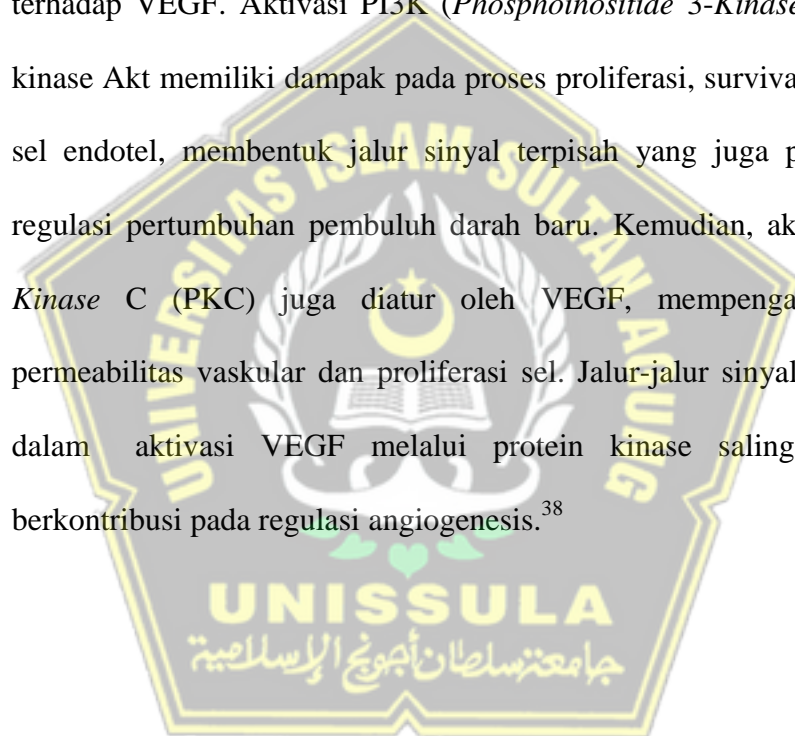
2.2.3 Mekanisme Aksi VEGF

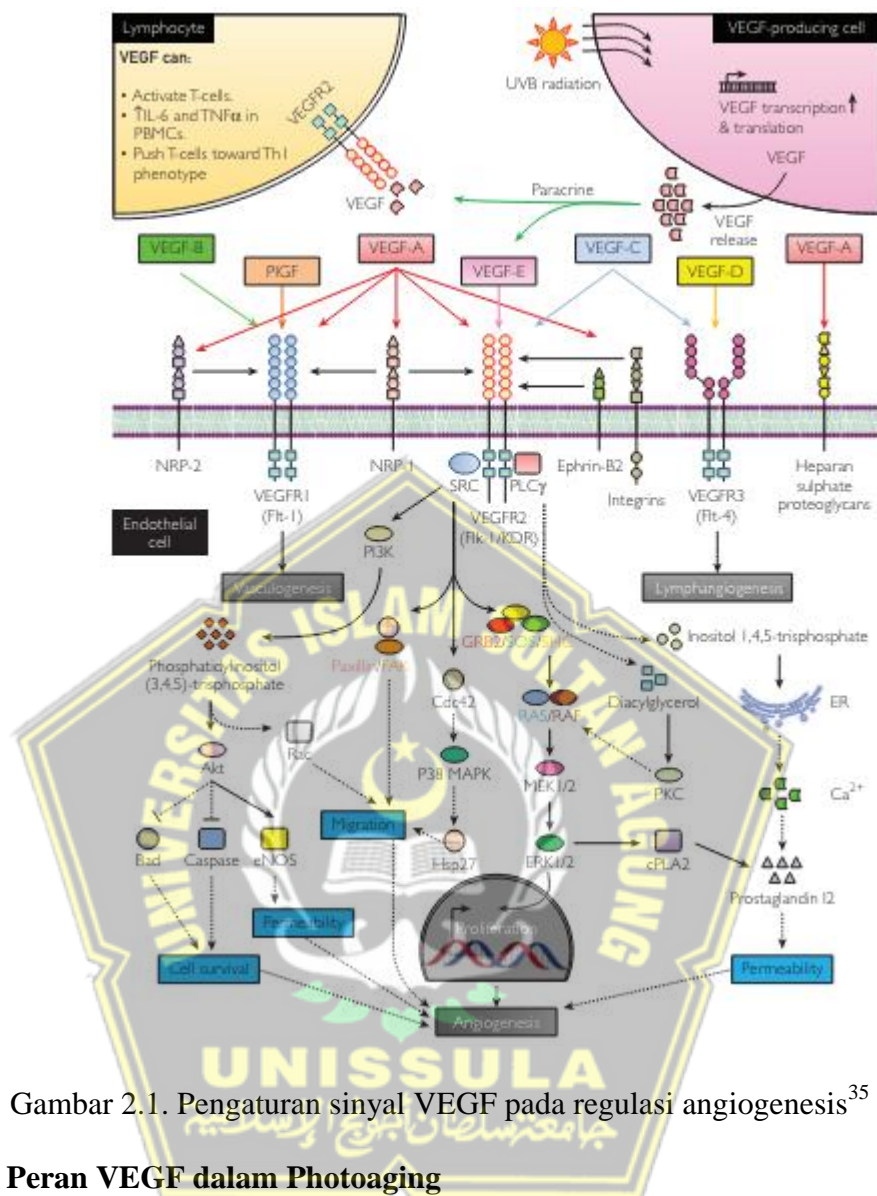
Aktivasi VEGF dapat melalui beberapa jalur, salah satunya adalah melalui jalur protein kinase. Jalur protein kinase merupakan proses yang kompleks yang memicu produksi VEGF yang berujung pada regulasi pertumbuhan pembuluh darah. Tahap awal dalam proses ini, VEGF berinteraksi dengan reseptor *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor* (VEGFR), yang terletak pada permukaan sel endotelium. Interaksi ini menyebabkan dimerisasi dan aktivasi VEGFR yang selanjutnya memicu aktivitas *tyrosine kinase* pada bagian intraselular reseptor. Fosforilasi yang terjadi pada *domain tyrosine kinase* ini merupakan tahap awal rekrutmen protein-protein adaptor seperti Grb2 dan Gab1, yang berperan penting dalam pengalihan sinyal.^{36,76}

Protein-protein adaptor yang terkumpul ini mengaktifkan serangkaian jalur sinyal kompleks. Jalur *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK) yang penting dalam proses ini melibatkan Ras, Raf, MEK

(MAPK/ERK Kinase), dan *Extracellular Signal- Regulated Kinase* (ERK), yang secara berurutan mengaktifkan kaskade sinyal yang mengontrol proliferasi dan diferensiasi sel endotel. Seiring aktivasi jalur MAPK, terjadi perubahan signifikan dalam respons seluler, termasuk migrasi, proliferasi, dan penyesuaian diferensiasi sel endotel.³⁷

Selain jalur MAPK, jalur PI3K/Akt juga terlibat dalam respons terhadap VEGF. Aktivasi PI3K (*Phosphoinositide 3-Kinase*) dan protein kinase Akt memiliki dampak pada proses proliferasi, survival, dan migrasi sel endotel, membentuk jalur sinyal terpisah yang juga penting dalam regulasi pertumbuhan pembuluh darah baru. Kemudian, aktivasi *Protein Kinase C* (PKC) juga diatur oleh VEGF, mempengaruhi regulasi permeabilitas vaskular dan proliferasi sel. Jalur-jalur sinyal yang terlibat dalam aktivasi VEGF melalui protein kinase saling terkait dan berkontribusi pada regulasi angiogenesis.³⁸





Gambar 2.1. Pengaturan sinyal VEGF pada regulasi angiogenesis³⁵

2.2.4 Peran VEGF dalam Photoaging

Paparan UVB dapat memainkan peran signifikan dalam pembentukan kerutan pada kulit. *Vascular Endothelial Growth Factor* memiliki hubungan yang penting dalam respons kulit ketika terkena paparan UVB. Sel-sel kulit mengalami kerusakan ketika terpapar UVB yang disebabkan oleh peningkatan stress oksidatif sehingga mengakibatkan penurunan produksi VEGF.³⁹

Protein VEGF berperan dalam mempertahankan kesehatan kulit

dengan mengatur pembentukan dan pemeliharaan pembuluh darah. Namun, defisiensi VEGF akibat paparan UVB dapat mengganggu fungsi normal faktor pertumbuhan ini sehingga mengarah pada berbagai dampak pada kulit, termasuk penurunan aliran darah ke lapisan kulit yang lebih dalam. Ketika aliran darah berkurang, kulit kehilangan pasokan nutrisi dan oksigen yang penting bagi regenerasi sel serta produksi kolagen dan elastin. Kolagen dan elastin merupakan struktur utama yang menjaga kekencangan dan elastisitas kulit. Kekurangan nutrisi dan oksigen akibat penurunan produksi VEGF akibat paparan UVB menyebabkan kulit kehilangan kemampuannya untuk memperbaiki diri dengan baik, menyebabkan munculnya kerutan pada kulit.⁴⁰

2.2.5 Metode Analisis VEGF

Analisis protein VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) dapat dilakukan dengan menggunakan sejumlah metode, seperti WB, ELISA, Staining *Immunohistochemistry* atau pun *Immunofluorescence* dan PCR yang masing-masing metode memiliki kelebihan dan kekurangan.

a. *Western Blot* (WB)

Western Blot adalah teknik yang memungkinkan identifikasi spesifik protein, seperti VEGF dan berbagai isoformnya. Kelebihan dari teknik ini adalah kemampuan mendeteksi berbagai bentuk VEGF dengan sensitivitas tinggi. Namun demikian, metode ini membutuhkan sampel yang cukup banyak, peralatan laboratorium yang kompleks, dan proses yang lebih teliti.²¹

b. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay merupakan metode yang paling umum digunakan karena memiliki tingkat kecepatan dan kapasitas analisis dalam skala besar. Metode ini memiliki sensitivitas yang baik sehingga memungkinkan deteksi dan pengukuran konsentrasi VEGF, namun, tidak mampu membedakan antara isoform VEGF yang berbeda dan rentan terhadap faktor-faktor yang memengaruhi interaksi antara antibodi dan antigen.²⁶

c. *Immunohistochemistry* atau *immunofluorescence*

Immunohistochemistry atau *immunofluorescence* memberikan manfaat visualisasi lokasi dan distribusi VEGF dalam jaringan. Hal ini memberikan informasi penting tentang ekspresi VEGF dalam sel dan jaringan. *Immunohistochemistry* dapat membantu dalam menegakkan diagnosis maupun prognosis beberapa penyakit, terutama kanker. VEGF berhubungan dengan angiogenesis terhadap tumor.^{24,41}

d. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Polymerase Chain Reaction memiliki tingkat sensitivitas tinggi dalam mendeteksi dan mengukur ekspresi gen VEGF. Hal ini memungkinkan studi kuantitatif tentang ekspresi gen, tetapi tidak memberikan informasi langsung tentang ekspresi protein dan rentan terhadap kontaminasi atau kesalahan teknis selama proses PCR.²³

2.3 Kedelai

Kedelai (*Glycine max*) adalah spesies tanaman kacang-kacangan yang berasal dari Asia Timur dan tersebar luas di seluruh dunia. Tanaman ini dikenal karena biji-bijinya yang kaya akan protein dan memiliki berbagai kegunaan dalam pangan, pakan ternak, dan industri.⁴²

Morfologi kedelai meliputi tanaman tahunan dengan batang tegak yang bercabang, mencapai ketinggian sekitar 0,5 hingga 2 meter. Daunnya berbentuk majemuk, tersusun dari tiga daun kecil lonjong hingga oval dengan ukuran sekitar 8-15 cm panjangnya. Kedelai menghasilkan bunga yang tumbuh dalam kelompok, dengan bunga berwarna ungu atau putih. Biji kedelai sendiri tumbuh dalam polong yang berjumlah dua hingga empat polong per tangkai, biasanya berisi dua hingga empat butir biji berbentuk bulat.⁴³

Biji kacang kedelai memiliki warna yang bervariasi, mulai dari kuning hingga kecokelatan, tergantung pada varietasnya. Kedelai banyak mengandung unsur dan zat pangan penting, seperti protein, lemak, karbohidrat, dan fitokimia yang bermanfaat untuk kesehatan. Kacang kedelai digunakan dalam berbagai produk pangan seperti tahu, tempe, susu kedelai, kecap, tauco, minyak kedelai, dan sebagai bahan dasar dalam produksi makanan olahan.⁴⁴



Gambar 2.2 Biji kedelai

2.3.1 Toksonomi Kedelai

Taksonomi tanaman kedelai dalam sistematik tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut⁴⁵:

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

2.3.2 Kandungan pada Kedelai

Kedelai mengandung berbagai fitokimia yang berperan sebagai antioksidan, dengan kandungan utama yaitu isoflavonoid. Isoflavonoid seperti genistein, daidzein, dan glycitein merupakan senyawa penting yang terkandung pada kedelai yang memiliki sifat antioksidan. Isoflavonoid ini merupakan senyawa fitoestrogen dengan struktur mirip dengan hormon estrogen manusia.⁴⁶

Genistein dan daidzein merupakan dua isoflavonoid utama yang dapat menghambat radikal bebas dan memainkan peran penting dalam perlindungan sel dari kerusakan oksidatif. Mereka bekerja dengan cara mengurangi stres oksidatif dan mengatur reaksi inflamasi di dalam tubuh.⁴⁷

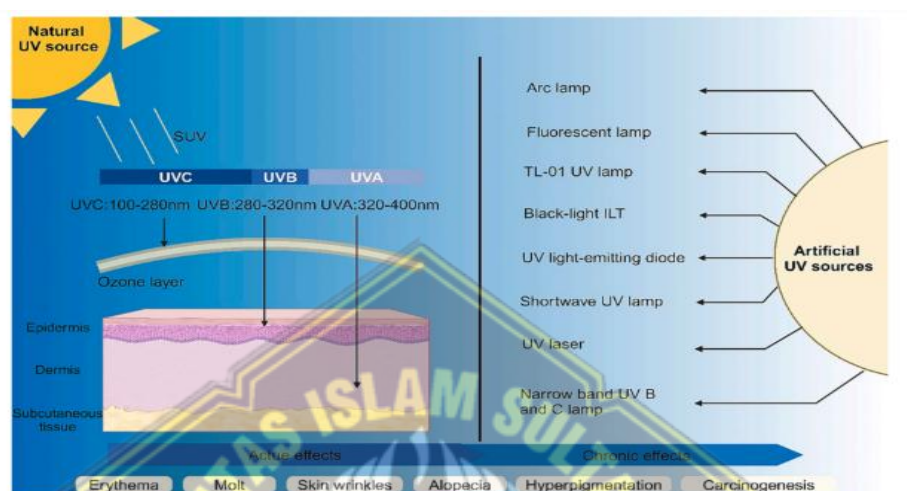
Selain isoflavonoid, kedelai juga mengandung senyawa-senyawa antioksidan lainnya seperti asam fenolat, fitosterol, saponin, dan vitamin E. Asam fenolat sebagai antioksidan kuat yang berperan melawan radikal bebas yang dapat merusak sel-sel tubuh. Fitosterol juga berperan dalam menyeimbangkan kadar kolesterol, menurunkan hipertensi, dan dapat memperlancar produksi ASI.⁴⁸ Saponin dan vitamin E pada kedelai memiliki sifat antioksidan yang dapat melindungi tubuh dari radikal bebas dan memperkuat sistem kekebalan tubuh, dan dapat mempertahankan kesehatan kulit.^{49,50}

Profil fitokimia yang kaya dalam kacang kedelai menjadi komponen penting dalam makanan dan nutrisi yang berfokus pada perlindungan tubuh dari kerusakan oksidatif, serta dalam mempromosikan kesehatan jantung, menopang kesehatan tulang, dan dalam menjaga keseimbangan hormonal dalam tubuh. Konsumsi kedelai secara teratur dapat memberikan manfaat antioksidan yang signifikan, menjaga kesehatan, dan mengurangi risiko beberapa penyakit kronis.⁵¹

2.4 Sinar UV

Radiasi ultraviolet merupakan sumber energi terpenting di bumi. Sinar UV dibagi menjadi tiga berdasarkan panjang gelombangnya, yaitu sinar UVA memiliki panjang gelombang 320-400 nm mencapai permukaan bumi bahkan mampu menembus kaca dan awan, sinar UVB memiliki panjang gelombang 280-320 nm yang sebagian sinarnya mencapai permukaan bumi, dan sinar UVC memiliki panjang gelombang 100-280 nm tidak dapat mencapai permukaan bumi

karena terserap oleh lapisan ozon. Sinar UVA dengan panjang gelombang lebih panjang menembus kulit hingga lapisan dermis, sedangkan sinar UVB hampir seluruhnya terserap di epidermis.



Gambar 2.3 Gambaran panjang sinar ultraviolet menembus lapisan kulit⁷⁰

Sinar UV memiliki peran dalam proses metabolisme tubuh, salah satunya untuk membantu sintesis vitamin D pada tubuh, sehingga dapat meningkatkan imunitas tubuh. Tetapi jika tubuh terpapar sinar UV berlebihan akan menimbulkan masalah kesehatan, seperti *sunburn*, *photoaging*, immunosupresi, dan fotokarsinogenesis.^{52,70}

Di beberapa penelitian menggunakan *minimal erythema dose* (MED) sebagai parameter untuk mengukur dosis minimum radiasi ultraviolet yang diperlukan untuk menghasilkan eritema pada kulit. MED yang tepat diperlukan untuk fototerapi UVB untuk penyakit kulit, menegakkan diagnosis fotodermatitis, dan menghindari efek yang merugikan seperti kulit terbakar (*sunburn*).⁵³

2.4.1 Dampak Sinar Ultraviolet B Terhadap Kulit

Kerusakan kulit akibat sinar UV karena terjadinya inflamasi, kerusakan keratinosit berupa kerusakan DNA, hancurnya matriks ekstraseluler dan gangguan permeabilitas vaskuler pada kulit.⁵⁴ Kondisi paparan dalam waktu singkat menyebabkan terjadinya luka bakar yang diakibatkan kematian keratinosit. Keratinosit mengembangkan siklus baru dengan melakukan proliferasi dan memulai siklus sel baru. Kondisi ini memicu hiperkeratosis dan melanisasi kulit sehingga menyebabkan tampilan kulit menggelap. Kondisi oksidatif menyebabkan kerusakan DNA dan merusak ikatan matriks ekstraseluler. Proses ini mendahului proses aktivitas inflamasi yang diinduksi UV. Aktivitas antioksidan menurunkan respon kerusakan jaringan.⁵⁵

Kondisi paparan kronik dapat menyebabkan eritema retikulata, hiperpigmentasi, pembentukan skuma halus, atrofi epidermis dan telangiektasis. Kondisi ini menyebabkan tampilan kulit yang kurang sehat disertai dengan aktivitas fotooksidasi yang merupakan bagian dari *photaging*.⁵⁶

2.5 Kulit

Kulit merupakan organ tubuh terbesar pada tubuh manusia. Peran utama kulit sebagai perlindungan mekanik terhadap lingkungan luar, seperti paparan sinar UV, bahan kimia dan patogen infeksius. Kulit memiliki tiga lapisan utama, yaitu epidermis, dermis, dan subkutan. Lapisan paling luar adalah epidermis yang termasuk jaringan epitel dan memiliki sel-sel yang dikenal sebagai sel keratinosit,

sel melanosit, sel merkel, dan sel langerhans. Lapisan epidermis terdiri dari stratum korneum, stratum lusidum, stratum granulosum, stratum spinosum, dan stratum basal. Stratum korneum merupakan lapisan epidermis paling atas yang berinteraksi langsung dengan lingkungan luar, dikenal sebagai lapisan tanduk. Stratum korneum memiliki 10-15 lapisan sel yang terdiri dari sel-sel mati, pipih, dan tidak mempunyai inti.

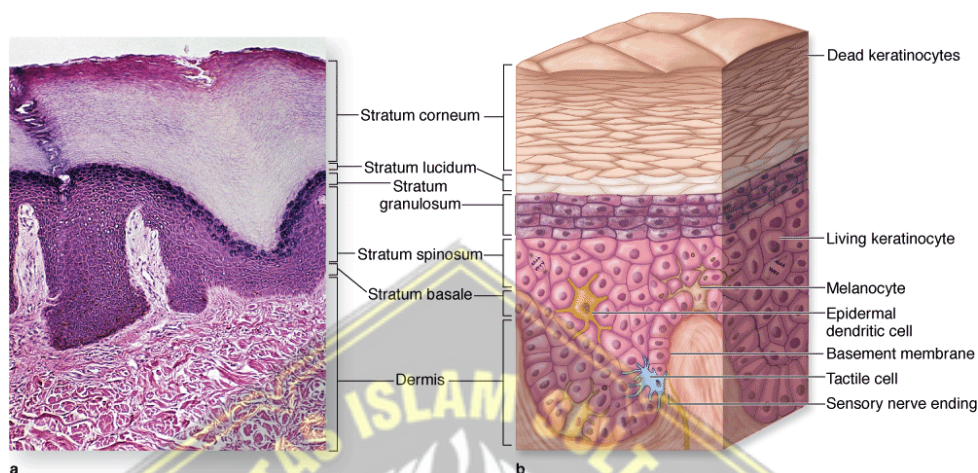
Lapisan stratum lusidum terletak dibawah lapisan stratum korneum yang memiliki duasampai tiga lapisan sel yang transparan dan tembus cahaya. Sel pada lapisan ini tidak memiliki inti dan organel. Inti sel dan organel pada lapisan ini hancur dan terjadi peningkatan proses keratinisasi sehingga terjadinya penebalan kulit. Stratum lusidum dapat ditemukan pada kulit yang tebal seperti telapak kaki dan tangan.

Stratum granulosum memiliki tiga sampai lima lapisan sel pipih yang mengandung banyak keratohialin. Keratohialin memiliki prekursor keratin yang akan membentuk ikatan yang dibutuhkan untuk pembentukan matriks interfibrilar yang berfungsi untuk menahan keratin filamen.

Stratum spinosum merupakan kumpulan sel basal dengan bentuk yang besar dan poligonal. Sel pada lapisan memiliki inti yang berbentuk lonjong. Jika diamati dibawah mikroskop, antara dinding sel dan sel disampingnya akan tampak seperti duri-duri yang terdapat desmosome yang berfungsi untuk menyambung sel satu dengan sel lainnya.

Stratum basal adalah lapisan yang paling dalam, yang terletak tepat diatas dermis yang dipisahkan oleh membran basal. Pada lapisan yang biasa juga

disebut dengan stratum germinativum ini memiliki sel dengan inti sel yang besar dengan bentuk kuboid atau silindris, dan aktif bermitosis untuk menghasilkan keratinosit. Lapisan ini juga memiliki pigmen melanin.⁵⁷



Gambar 2.4 Lapisan kulit normal, a) tampak mikroskopik histologi jaringan kulit, (b) ilustrasi lapisan kulit⁵⁷

Dermis adalah lapisan tengah kulit yang merupakan jaringan ikat padat dan terdiri dari protein yang disebut dengan kolagen dan elastin. Dermis berisi kelenjar keringat, rambut, folikel rambut, otot, neuron sensoris, dan vasa darah. Lapisan subkutan adalah lapisan di bawah dermis yang merupakan jaringan ikat longgar dan mengandung sel lemak.⁵⁸

2.6 Photoaging

2.6.1 Definisi Photoaging

Photoaging adalah proses penuaan kulit yang dipicu oleh paparan UV dari sinar matahari secara berlebihan dan secara terus menerus. Paparan sinar UV mengakibatkan aktivasi sistem imun tubuh yang melibatkan sel inflamasi seperti makrofag, neutrofil, dan limfosit T. Reaksi inflamasi ini menjadi salah satu aspek penting dalam perubahan kulit akibat paparan

UV yang terjadi secara terus menerus.⁵⁹

Sel inflamasi lokal di area kulit yang teraktivasi akibat paparan sinar UV akan melepaskan berbagai sitokin, di antaranya IL-1, IL-6, dan TNF- α . Sitokin-sitokin ini berperan dalam meningkatkan respons inflamasi, merusak struktur kulit, dan mengubah produksi komponen penting seperti kolagen dan elastin.⁶⁰

Proses *photoaging* juga terkait dengan perubahan dalam produksi *growth factor*. Sinar UV dapat mempengaruhi produksi *growth factor*, terutama TGF- β . Protein TGF- β adalah salah satu dari beberapa *growth factor* yang berperan penting dalam menjaga elastisitas kulit karena mampu merangsang aktivasi sel fibroblast untuk memproduksi kolagen. Kondisi paparan sinar UV yang berlebihan dapat mengurangi ekspresi TGF- β yang mengakibatkan penurunan produksi kolagen serta meningkatkan kerusakan dan penuaan kulit.⁶¹

Kerusakan kulit akibat paparan sinar UV tidak hanya terjadi pada permukaan kulit, tapi juga melibatkan perubahan pada tingkat seluler. Radikal bebas yang dihasilkan dari paparan UV menyebabkan kerusakan pada DNA sel-sel kulit, yang pada gilirannya, mengaktifkan jalur inflamasi dan mengganggu fungsi normal sel.⁶²

2.6.2 Klasifikasi Photoaging

Photoaging akibat paparan UVB dapat dibagi menjadi akut dan kronis yang masing-masing dengan waktu paparan UVB yang berbeda.

1. Photoaging Akut:

Paparan UVB dalam waktu singkat dengan intensitas tinggi dapat menyebabkan photoaging akut. Kondisi ini dapat terjadi ketika paparan intens dalam waktu yang relatif singkat, dari hitungan menit hingga jam. Kulit pada kondisi ini bisa merespons dengan peradangan yang dapat dilihat dari warna kemerahan pada kulit hingga reaksi seperti *sunburn*. Namun, efek ini biasanya bersifat sementara dan kulit dapat kembali ke kondisi semula.

2. Photoaging Kronik:

Photoaging kronis merupakan kondisi yang dihasilkan dari paparan UVB yang berkepanjangan selama bertahun-tahun tanpa perlindungan yang memadai. Kondisi ditandai dengan kerusakan kulit yang serius, termasuk penipisan kulit, kerutan yang dalam, bintik-bintik hiperpigmentasi, hingga risiko tinggi terhadap kanker kulit.⁶³

2.7 Efek Sinar UV terhadap TNF- α dan VEGF

Paparan sinar UV pada kulit memiliki dampak yang signifikan terhadap regulasi sitokin dan faktor pertumbuhan, termasuk TNF- α dan VEGF.⁶⁴ Radiasi UV mampu memicu reaksi inflamasi yang kompleks pada kulit, menyebabkan peningkatan ekspresi TNF- α . TNF- α merupakan sitokin proinflamasi yang berperan dalam merangsang respons imun, namun tingkat yang berlebihan dapat berkontribusi pada peradangan kronis dan berbagai masalah kulit.⁶⁵ Protein ini merangsang produksi enzim MMP, terutama MMP-1 yang bertanggung jawab atas degradasi kolagen, protein struktural utama kulit. Proses ini mengakibatkan

kehilangan elastisitas dan kekencangan kulit serta pembentukan garis halus dan kerutan pada kulit, ciri khas dari *photoaging*. Selain itu, TNF- α juga memicu produksi radikal bebas dan stres oksidatif dalam kulit, yang berkontribusi pada kerusakan seluler dan percepatan proses penuaan kulit.¹⁸

Di samping itu, radiasi UV juga dapat mengatur ekspresi VEGF, faktor pertumbuhan yang esensial untuk angiogenesis atau pembentukan pembuluh darah baru. Peningkatan ekspresi VEGF merupakan respons adaptif terhadap kerusakan kulit yang disebabkan oleh sinar UV, dengan tujuan untuk memulihkan pasokan darah dan nutrisi ke area yang terkena. Namun, regulasi yang tidak seimbang dari VEGF dapat menyebabkan angiogenesis yang berlebihan, yang pada gilirannya dapat terlibat dalam pembentukan kondisi patologis, seperti karsinogenesis atau penyakit kulit yang berkaitan dengan vaskularisasi berlebihan.⁶⁶

Ketika aliran darah berkurang, kulit kehilangan pasokan nutrisi dan oksigen yang penting bagi regenerasi sel serta produksi kolagen dan elastin. Kolagen dan elastin merupakan struktur utama yang menjaga kekencangan dan elastisitas kulit. Kekurangan nutrisi dan oksigen akibat penurunan produksi VEGF akibat paparan UVB menyebabkan kulit kehilangan kemampuannya untuk memperbaiki diri dengan baik, menyebabkan munculnya kerutan pada kulit.⁶⁶

Pemahaman lebih lanjut tentang regulasi TNF- α dan VEGF oleh radiasi UV menjadi krusial dalam konteks *photoaging* dan masalah kulit terkait penuaan. Dengan memahami peran kunci TNF α dalam respons inflamasi dan VEGF dalam proses regeneratif dan vaskularisasi, pengembangan strategi perlindungan kulit

dan perawatan yang bertarget pada pengaturan keseimbangan ini dapat menjadi langkah penting dalam mengurangi dampak negatif paparan sinar UV pada kesehatan kulit.⁶⁷

2.8 Efek Ekstrak Kedelai terhadap TNF α dan VEGF

Isoflavonoid dalam ekstrak kedelai memiliki sifat antioksidan yang dapat memberikan perlindungan terhadap kerusakan oksidatif yang seringkali dikaitkan dengan paparan sinar UV. Dengan menetralkan radikal bebas, ekstrak kedelai membantu melindungi sel-sel kulit dari stres oksidatif yang dapat memicu respons inflamasi dan perubahan patologis pada tingkat seluler.⁵¹

Pemberian ekstrak kedelai secara oral telah terbukti menunjukkan efek positif terhadap modulasi TNF- α . Isoflavonoid dalam kedelai dapat menekan ekspresi TNF- α , mengurangi tingkat sitokin proinflamasi yang berperan dalam peradangan kronis pada kulit. Selain itu, isoflavonoid genistein dapat berkontribusi pada pengaturan TNF- α dengan menghambat jalur sinyal inflamasi yang terlibat dalam ekspresi TNF- α , sehingga membantu mengendalikan respons inflamasi yang tidak seimbang.^{68,69}

Ekstrak kedelai juga dapat memengaruhi ekspresi VEGF, yang merupakan *growth factor* yang terlibat dalam regulasi angiogenesis. Isoflavonoid pada ekstrak kedelai dapat memengaruhi ekspresi VEGF, membantu menjaga keseimbangan yang tepat dalam proses angiogenesis. Dengan demikian, ekstrak kedelai dapat memainkan peran dalam mendukung proses regenerasi kulit dan meminimalkan risiko komplikasi yang terkait dengan angiogenesis berlebihan yang diinduksi oleh paparan UV.⁶

Ekstrak kedelai menawarkan potensi sebagai bahan alami yang dapat membantu menjaga kesehatan kulit dan meredakan dampak penuaan yang disebabkan oleh paparan sinar UV. Potensi ini dapat membuka jalan untuk pengembangan formulasi perawatan kulit yang menggunakan ekstrak kedelai sebagai komponen penting dalam upaya melindungi kulit dari efek negatif paparan UV dan mendukung kesehatan kulit secara keseluruhan. Penggunaan ekstrak kedelai sebagai bagian dari perawatan kulit dapat memberikan manfaat melalui regulasi TNF- α dan VEGF, membantu menjaga keseimbangan inflamasi dan regenerasi yang esensial untuk kesehatan kulit yang optimal.⁵

2.9 Krim

2.9.1 Definisi Krim

Krim merupakan salah satu sediaan topikal semi-padat dari bentuk sediaan minyak dalam air atau air dalam minyak. Krim dapat digunakan sebagai terapeutik dan kosmetik yang memiliki fungsi untuk perawatan kulit seperti membersihkan, melembabkan, perlindungan, perbaikan pada kulit. Sediaan topikal digunakan dengan mengoleskan langsung pada kulit, yang dapat membantu mengurangi resiko efek samping sistemik.^{72,73}

2.9.2 Jenis-Jenis Krim

Krim terdiri dari dua fase utama, yaitu fase minyak dan fase air yang membentuk emulsi. Ada dua jenis emulsi pada krim, yaitu :

1. Krim Minyak Dalam Air (M/A atau O/W)

Krim ini memiliki tetesan minyak yang didispersikan dalam fase air, lebih mudah dicuci dengan air, dan sering digunakan sebagai krim

kosmetik atau pelembab kulit. Contoh krim minyak dalam air yaitu *vanishing cream*.

2. Krim Air Dalam Minyak (A/M atau W/O)

Krim ini memiliki tetesan air yang didispersikan dalam fase minyak, lebih berminyak dan lebih sulit dicuci dengan air, dan sering digunakan untuk krim perlindungan tambahan terhadap kehilangan air dari kulit. Contoh krim air dalam minyak yaitu *cold cream* yang digunakan untuk memberikan rasa dingin dan nyaman pada.^{72,74}

2.9.3 Bahan-Bahan Pembuatan Krim

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan krim, antara lain :

1. Air

Air merupakan bahan baku yang paling penting dan banyak digunakan dalam formulasi berbagai krim. Air sebagai pelarut yang bebas dari polutan, mikroba, dan racun. Air juga dapat membentuk emulsi yang dipengaruhi oleh berapa banyak jumlah air yang digunakan dalam formulasi, baik emulsi minyak dalam air maupun emulsi air dalam minyak tergantung pada jumlah fase minyak dan fase air yang digunakan.

2. Minyak, lemak, dan lilin

Minyak, lemak, dan lilin merupakan bagian penting dalam krim. Minyak sebagai pewangi, pengawet, dan lainnya yang berdasarkan fungsinya. Minyak berperan sebagai penghalang pada permukaan kulit dan memperlambat hilangnya air. Minyak terdiri dari dua jenis,

yaitu :

a. Minyak mineral

Minyak mineral merupakan minyak yang jernih, tidak berbau, dan banyak digunakan dalam kosmetik. Minyak mineral terdiri dari hidrokarbon yang berasal dari minyak bumi. Contoh minyak mineral yaitu parafin cair ringan, parafin cair berat, minyak bumi cair.

b. Minyak gliserida

Minyak gliserida sebagian besar merupakan minyak nabati. Contoh minyak gliserida yaitu minyak almond, minyak jarak, minyak kelapa, minyak zaitun, dan lain-lain.

Lemak berperan sebagai pengental dalam pembuatan krim. Bahan tersebut dapat diperoleh dari hewan, tumbuhan, atau mineral. Minyak dan lemak gliserida dapat berasal dari hewan atau nabati yang terdiri dari kombinasi asam lemak tinggi dan gliserin. Asam lemak yang paling umum adalah kelompok laurat, margarat, plamitat, stearat, dan kelompok asam lemak jenuh. Asam oleat adalah asam lemak tak jenuh cair.

Lilin berperan sebagai pengemulsi. Lilin yang digunakan dalam pembuatan krim yaitu lilin lebah, lilin karnauba, ceresin, spermcaetin, dan lain-lain. Lilin juga dapat meningkatkan ketebalan bagian lipid dan menempel pada permukaan kulit.

3. Lanolin

Lanolin merupakan senyawa alami yang berasal dari bulu domba. Lanolin terdiri dari dua jenis, yaitu lanolin hidrous mengandung antara 25%-30% air dan lanolin anhidrat yang memiliki suhu 38°C-42°C serta sedikit berbau. Bahan-bahan tersebut berfungsi sebagai pelumas pada permukaan kulit sehingga kulit tampak halus dan lembut. Lanolin membantu membentuk emulsi dan bercampur dengan baik dengan zat lain yang digunakan dalam produk kosmetik.

4. Warna

Sebelum teknologi modern dikembangkan, warna pada dasarnya berasal dari bahan alami, seperti saffron, kunyit, tanaman nila, dan lainnya. Sejak abad ke-19, warna telah diproduksi di laboratorium dan warna yang dihasilkan lebih stabil dan intensitas warna yang lebih baik.

5. Emolien

Emolien disebut sebagai pelembab yang membantu melembutkan kulit dan merawat kulit yang cenderung kering. Emolien lebih banyak berbentuk minyak atau lemak, seperti minyak mineral, squalene, dan lanolin. Bahan tersebut bekerja dengan meningkatkan kemampuan kulit untuk menahan air, memberikan lapisan minyak pada kulit untuk mencegah kehilangan air dan melembabkan kulit.

6. Humektan

Humektan merupakan senyawa organik hidroskopis. Bahan ini dapat menyerap atau mempertahankan kelembapan. Humektan sering

dimanfaatkan sebagai pelembab dan eksfoliasi kulit. Contoh humektan yaitu gliserin, *hydroxyethyl urea*, betain, sodium PCA, dan *Sodium-l-Lactat*

7. Parfum

Parfum merupakan suatu zat memberikan aroma yang berbau manis atau menyenangkan. Contoh parfum alami yaitu aroma bunga, aroma jeruk, dan lainnya.

8. Vitamin

Vitamin berperan penting dalam menjaga fisiologis seluruh tubuh dan kulit. Vitamin-vitamin yang umum digunakan pada formulasi krim yaitu vitamin A, vitamin B, vitamin C, dan vitamin E.

9. Pengawet

Bahan pengawet dalam kosmetik sangat penting untuk mencegah perubahan yang disebabkan oleh mikroorganisme dan kontaminasi selama formulasi, pengiriman, penyimpanan dan penggunaan konsumen,

Antioksidan juga dapat digunakan untuk melindungi perubahan yang disebabkan oleh paparan oksigen. Pengawet sintesis jika digunakan dalam konsentrasi rendah efektif mengawetkan produk.⁷⁴

2.9.4 Kelebihan Penggunaan Krim

Penggunaan krim memiliki banyak kelebihan, terutama dalam kosmetik dan pengobatan topikal. Beberapa kelebihan dari penggunaan krim, yaitu :

1. Merupakan cara termudah dan nyaman dalam memberikan obat.
2. Krim dapat dioleskan langsung pada area kulit yang memerlukan perawatan.
3. Konsentrasi bahan aktif yang tinggi pada area kulit tanpa perlu dosis tinggi secara sistemik.
4. Tidak menunjukkan efek samping pada organ tubuh lainnya.
5. Lebih aman untuk pemakaian jangka panjang, terutama perawatan kondisi kronis seperti eksim atau psoriasis.
6. Krim tersedia dalam berbagai formulasi untuk semua jenis dan kondisi kulit, seperti pelembab, krim jerawat, krim anti penuaan, dan tabir surya.
7. Krim dapat mengandung bahan aktif seperti retinoid, antibiotik, kortikosteroid, dan asam salisilat.^{72,74}

2.9.5 Kekurangan Penggunaan Krim

Penggunaan krim memiliki kekurangan yang perlu diperhatikan. Beberapa kekurangan dari penggunaan krim, yaitu :

1. Iritasi kulit.
2. Beberapa bahan aktif menunjukkan permeabilitas yang rendah melalui kulit, sehingga mengurangi efektivitas pengobatan.
3. Reaksi kontak alergi.⁷⁴

2.9.6 Jalur Penetrasi Obat Pada Kulit

a. Absorpsi *Transepidermal*

Jalur absorpsi *transepidermal* merupakan salah satu cara di mana zat melalui stratum korneum. Absorpsi *transepidermal* terbagi dua jalur yaitu :

1. Jalur Intraseluler (melalui korneosit dan lamela lipid)

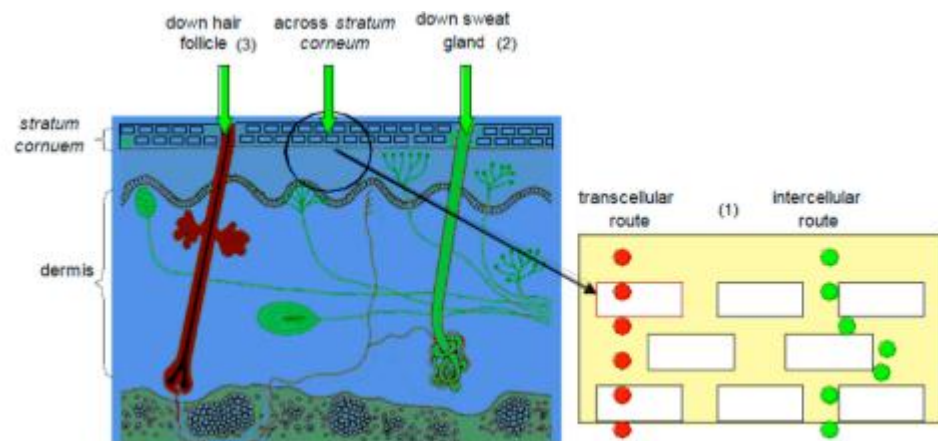
Jalur intraseluler dikenal juga sebagai jalur transseluler. Jalur ini dilalui molekul dengan melawati korneosit yang terletak di stratum korneum. Keratinosit bersifat hidrofilik, sehingga obat hidrofilik akan lebih mudah melewati stratum korneum.

2. Jalur Interseluler

Jalur interseluler merupakan jalur yang dilalui molekul-molekul dengan melewati ruang antar sel-sel stratum korneum. Jalur ini memerlukan zat untuk berpindah melalui lipid-lipid yang terdapat di antara sel-sel keratinosit. Lapisan-lapisan lemak pada stratum korneum penting dalam mengurangi kehilangan air pada kulit. Keseimbangan kelarutan lipid dan air yang berperan untuk kelarutan dalam membran mempengaruhi molekul untuk melintasi jalur interseluler.

b. Absorpsi *Transappendageal*

Jalur absorpsi *transappendageal* merupakan jalur masuknya obat melalui kelenjar keringat dan folikel rambut, yang dimana molekul masuk melalui stratum korneum.⁷⁵



Gambar 2.5 Jalur penetrasi obat pada kulit

- 1) Jalur *transepidermal* (transseluler dan interseuler), 2) Jalur *transappendageal* melalui kelenjar keringat, 3) Jalur *transappendageal* melalui folikel rambut⁷⁵



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori

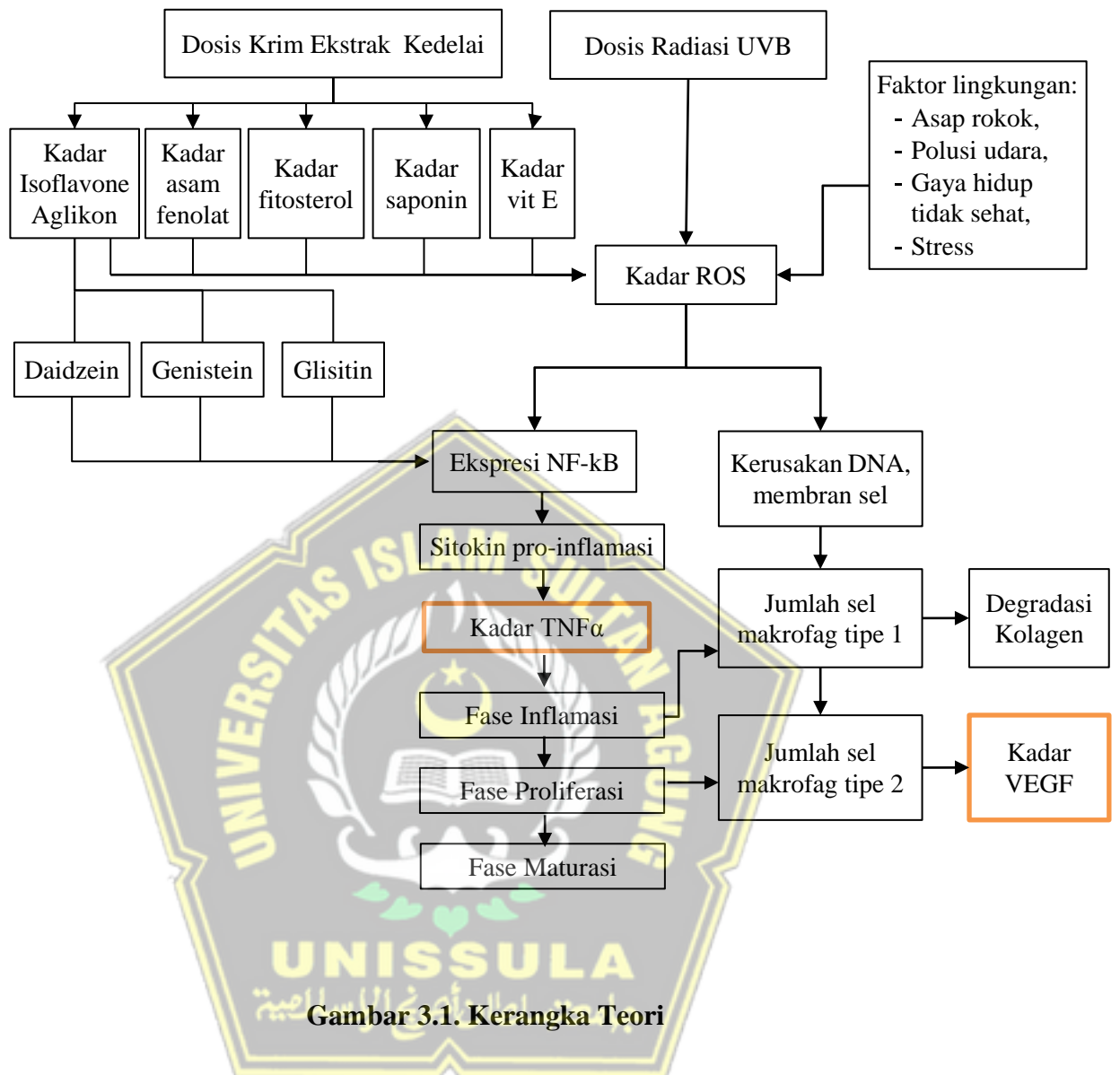
Proses penuaan dipengaruhi oleh faktor ekstrinsik, terutama disebabkan oleh paparan sinar UVB (*photoaging*) yang dapat menyebabkan kerusakan kulit dengan gejala akut yaitu eritema, rasa nyeri, dan gatal pada kulit. Selain itu, proses penuaan juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan diantaranya asap rokok, polusi udara, gaya hidup tidak sehat, dan stress. Paparan lingkungan tersebut menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS). ROS yang dihasilkan diantaranya anion superoksida (O_2^-), hydrogen peroksida (H_2O_2), dan hidroksil radikal (OH^\cdot). ROS akan menyebabkan kerusakan DNA dan membran sel.

ROS dapat mengaktifkan jalur *Nuclear factor-kappa B* (NF- κ B) kemudian mengaktifkan sitokin proinflamasi yaitu IL-1, IL-6, dan TNF- α , dan terjadi translokasi NF- κ B pada nukleus untuk mengaktifkan sitokin inflamasi TNF- α . Fase inflamasi, makrofag tipe 1 (M1) berperan dalam merespon sitokin pro-inflamasi melalui ikatan TNF- α , saat fase akhir inflamasi produksi TNF- α menurun diikuti dengan perubahan M1 menjadi makrofag tipe 2 (M2) sebagai anti-inflamasi. Dalam fase proliferasi, M2 berperan dalam proses penyembuhan dan regenerasi jaringan dengan memicu ekspresi VEGF. VEGF juga dihasilkan oleh sel endotel. VEGF berperan penting dalam meningkatkan permeabilitas pembuluh darah dan mempromosikan angiogenesis. Angiogenesis merupakan

proses pembentukan pembuluh darah baru dari pembuluh darah baru yang sudah ada berperan sebagai respon awal kerusakan kulit karena paparan sinar UVB.

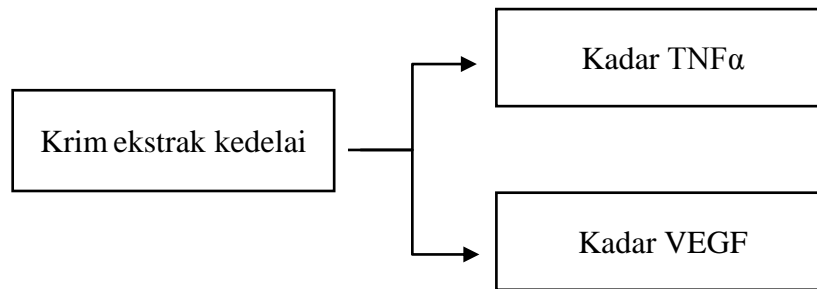
Kedelai memiliki kandungan isoflavon, terutama isoflavon aglikon (daidzein, genistein, dan glisitin) berperan dalam fotoproteksi, antioksidan, antiinflamasi, dan antikanker. Kedelai juga mengandung asam fenolat, fitosterol, saponin, vitamin E yang merupakan senyawa-senyawa antioksidan. Dengan pemberian krim ekstrak kedelai diharapkan memiliki peran dalam menghambat dan mencegah kerusakan kulit karena radikal bebas yang dipaparkan sinar UVB, menurunkan pembentukan sitokin proinflamasi dan meningkatkan kadar VEGF.





Gambar 3.1. Kerangka Teori

3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3 Hipotesis

Pemberian krim ekstrak kedelai berpengaruh menurunkan kadar TNF α dan meningkatkan kadar VEGF pada kulit mencit BALB/c yang dipapar sinar UVB sub kronis.



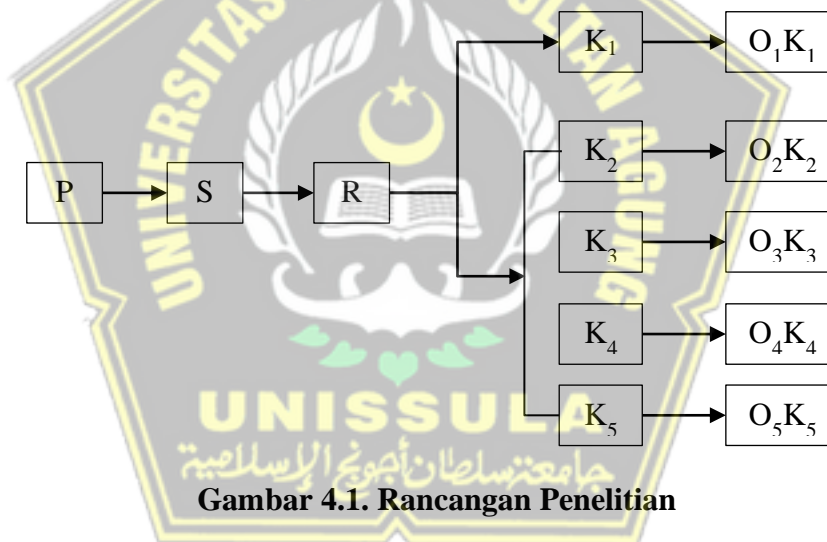
BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini eksperimental *in vivo* dengan menggunakan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design* dengan metode rancang acak menggunakan hewan coba mencit BALB/c sebagai objek penelitian yang dipapar sinar UVB.

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok dengan rincian sebagai berikut :



Keterangan :

P : Populasi

S : Sampel

R : Random

K1 : Kelompok sehat, tidak diberi perlakuan

K2 : Kelompok kontrol negatif (subjek dipapar sinar UVB)

K3 : Kelompok kontrol positif (subjek dipapar sinar UVB dan diolesi krim Vitamin E)

- K4 : Kelompok perlakuan 1 (subjek dipapar sinar UVB dan diolesi krim ekstrak kedelai 10%)
- K5 : Kelompok perlakuan 2 (subjek dipapar sinar UVB dan diolesi krim ekstrak kedelai 20%)
- O₁K₁ : Observasi kadar TNF α dan kadar VEGF pada kelompok sehat
- O₂K₂ : Observasi kadar TNF α dan kadar VEGF pada kelompok kontrol negatif
- O₃K₃ : Observasi kadar TNF α dan kadar VEGF pada kelompok kontrol positif
- O₄K₄ : Observasi kadar TNF α dan kadar VEGF pada kelompok perlakuan 1
- O₅K₅ : Observasi kadar TNF α dan kadar VEGF pada kelompok perlakuan 2

4.2 Subyek dan Sampel Penelitian

4.2.1 Subyek penelitian

Mencit betina BALB/c berusia 6-8 minggu, berat 25-35 g, telah dinyatakan layak digunakan untuk penelitian oleh *Animal Model Research Center* SCCR Indonesia dengan No 003/AMRC-SCCR/VI/2024. Mencit dipelihara di ruangan dengan ventilasi cukup, suhu ruangan 28-32°C di laboratorium. Mencit diberi makanan pellet dan minuman air putih secara *ad libitum*. Sebelum dilakukan perlakuan, mencit diaklimatisasi dalam kandang selama 7 hari.

4.2.2 Sampel penelitian

4.2.2.1 Kriteria inklusi

1. Mencit BALB/c betina
2. Umur 6-8 minggu
3. Berat badan 25-35 g

4. Mencit sehat dan gerak aktif

4.2.2.2 Kriteria Eksklusi

1. Sudah pernah digunakan untuk penelitian sebelumnya

4.2.2.3 Kriteria drop out

1. Mencit sakit selama masa penelitian
2. Mencit mengalami kematian

4.2.2.4 Besar sampel

Besar sampel yang diperlukan dalam penelitian ini menggunakan rumus Federer, yaitu :

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

Keterangan : t = jumlah kelompok

n = jumlah sampel per kelompok

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok, maka sesuai dengan rumus Federer :

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

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

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

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

Berdasarkan rumus, maka jumlah sampel 5 ekor di tiap kelompoknya dan dikalikan dengan jumlah kelompok perlakuan. Setiap kelompok ditambahkan 10% hewan coba untuk mengantisipasi *drop out*

pada mencit. Penambahan yang didapatkan yaitu $10\% \times 5 = 0,5$ atau setara 1 ekor hewan coba ditiap kelompoknya. Sampel tiap kelompok 6 ekor dan jumlah sampel pada penelitian ini 30 ekor mencit betina BALB/c untuk lima kelompok.

4.2.2.5 Teknik pengambilan sampel penelitian

1. Dari populasi mencit BALB/c, diadakan pemilihan sampel berdasarkan kriteria inklusi.
2. Dari jumlah sampel yang telah memenuhi syarat, maka pengambilan sampel secara acak atau *random sampling allocation*.
3. Dari sampel yang telah dipilih, kemudian dibagi menjadi 5 kelompok secara random yaitu kelompok kontrol (mencit sehat), kelompok kontrol negatif (6 ekor mencit dipapar sinar UVB), dan kelompok kontrol positif (6 ekor mencit dipapar sinar UVB dan diberikan krim vitamin E), kelompok perlakuan 1 (6 ekor mencit dipapar sinar UVB dan diberikan krim ekstrak kedelai 10%) dan kelompok perlakuan 2 (6 ekor mencit dipapar sinar UVB dan diberikan krim ekstrak kedelai 20%)

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1 Variabel penelitian

4.3.1.1 Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah krim ekstrak kedelai menggunakan dosis 10% dan 20%.

4.3.1.2 Variabel tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah kadar TNF- α dan VEGF.

4.3.1.3 Variabel prakondisi

Variabel prakondisi pada penelitian ini adalah sinar UVB.

4.3.1.4 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah mencit BALB/c, umur, jenis kelamin, berat badan, nutrisi atau pakan mencit, dan kondisi lingkungan tempat pemeliharaan mencit.

4.3.2 Definisi operasional variabel

4.3.2.1 Variabel Bebas

Krim ekstrak kedelai

Ekstrak kedelai diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dan dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* untuk menghilangkan etanol dan mendapatkan ekstrak. Ekstrak kedelai kemudian dicampur dengan *Shea Butter* sebagai basis krim dengan dosis 10% dan 20% yang diberikan secara topikal sebanyak 200 mg satu kali sehari selama 14 hari pada punggung mencit betina BALB/c yang sudah dicukur.

Satuan : persentase (%)

Skala ordinal

4.3.2.2 Variabel tergantung

1. Kadar TNF- α

Kadar TNF- α adalah banyaknya TNF- α pada jaringan kulit mencit

yang dihomogenisasi dengan *ripa buffer*, disentrifugasi, dan supernatan dianalisa untuk mengukur kadar TNF- α menggunakan metode ELISA.

Satuan : pg/mL

Skala ratio

2. Kadar VEGF

Kadar VEGF adalah banyaknya VEGF pada jaringan kulit mencit yang dihomogenisasi dengan *ripa buffer*, disentrifugasi, dan supernatan dianalisa untuk mengukur kadar VEGF menggunakan metode ELISA.

Satuan : pg/mL

Skala ratio

4.3.2.3 Variabel prakondisi

Sinar UVB yang berasal dari perangkat UVB narrowband tipe TL-F72-100W/12 diberikan dengan dosis 1 MED selama 8 menit dengan jarak penyinaran 20 cm. Induksi sinar UVB diberikan seminggu 5 kali selama 2 minggu.

Skala ratio

4.4 Peralatan Penelitian

4.4.1 Alat pembuatan ekstrak kedelai

1. Batang pengaduk
2. Cawan porselin
3. Blender
4. Gelas kimis (pyrex)
5. Labu Erlenmeyer

6. Pipet volume & pipet tetes
7. Rak tubang & tabung reaksi
8. Sendok tanduk
9. Bejana maserasi
10. Timbangan analitik (carat series) Vortek
11. Rotary evaporator
12. Oven

4.4.2 Alat untuk pemeliharaan mencit

1. Kandang mencit dilengkapi dengan tempat pakan dan minum
2. Papan fiksasi
3. Sarung tangan
4. Alas sekam padi
5. Alat cukur
6. Timbangan analitik

4.4.3 Alat pembuatan preparat

1. Talenan
2. Pisau scalpel
3. Pinset
4. Saringan
5. *Tissue casset*
6. Mesin *processor* otomatis
7. Mesin vakum
8. Mesin blocking

9. *Freezer* -20°C
10. Mesin microtome
11. *Water bath* 46°C
12. Kaca objek
13. Kaca penutup

4.4.4 Alat untuk ELISA

1. *Assay plate*
2. Mikropipet *single*
3. Mikropipet *multiple*
4. Tabung *Eppendorf*
5. *Vortex*

4.5 Bahan Penelitian

1. Bahan basis krim
2. Krim ekstrak kedelai dengan dosis 10%, 20%
3. Lampu UVB tipe *Narrowband* TL-F72-100W/12
4. Pengukur dosis radiasi (Dosimetri)
5. Larutan standar
6. *Assay diluent* A dan B
7. Konsentrat larutan pencuci (*Wash Buffer Concentrate*)
8. *Substrat solution* A dan B
9. *Stop solution*
10. *Plate sealer*
11. Air suling

4.6 Cara Penelitian

4.6.1 Ethical Clearence

Penelitian ini dilakukan setelah mendapat persetujuan *ethical clearence* Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang dengan No 229/VII/2024/KomisiBioetik.

4.6.2 Pembuatan Ekstrak

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

4.6.3 Pembuatan Krim

Bahan – bahan yang terdapat dalam fase minyak yaitu asam stearate, triethanolamine, gliserin, kalium hidroksida, dan air suling. Bahan- bahan ditimbang kemudian dicampur dengan ekstrak kedelai dalam wadah penggiling dan ditambahkan sedikit demi sedikit sambal diaduk hingga merata. Kemudian, campuran ini ditambahkan dengan krim

dasar dan diaduk hingga merata, lalu dimasukkan ke dalam wadah.

4.6.4 Perlakuan Paparan Sinar UVB Pada Mencit

Tahapan dalam penyinaran UVB pada mencit BALB/c sebagai berikut :

1. Mencit betina BALB/c diadaptasikan selama 7 hari
2. Mencit dibius menggunakan campuran ketamine (60 mg/kgbb) dan xylazine (20 mg/kgbb) secara *intramuscular* sebanyak 0,5 ml, kemudian rambut pada bagian punggung mencit dicukur dengan ukuran 2x3 cm
3. Punggung mencit dipaparkan sinar UVB dengan jarak 20 cm dengan *minimal erythema doses* (1 MED 150 mJ/cm²) selama 8 menit, setiap 5 kali dalam seminggu selama 14 hari
4. Pemberian krim ekstrak kedelai yang dilakukan pada jam yang sama, yaitu pukul 10.00
5. Setelah diberikan penyinaran UVB selama 8 menit, kelompok kontrol positif diberi perlakuan secara topikal dengan pemberian krim vitamin E, sedangkan kelompok perlakuan 1 dan 2 diberikan krim ekstrak kedelai dosis 10% dan 20% satu kali sehari selama 14 hari, 30 menit pasca paparan sinar UVB.

4.6.5 Tahapan Penelitian Dilakukan Sebagai Berikut :

1. Persiapkan 30 ekor mencit betina BALB/c usia 6-8 minggu dengan berat 25–35 g yang telah diadaptasi selama 7 hari
2. Cukur punggung mencit seluas 2x3 cm
3. Lakukan penyinaran pada punggung mencit dengan sinar UVB

dengan dosis minimal 1 MED dengan jarak 20 cm selama 8 menit.

4. Berikan perlakuan pada mencit sesuai kelompoknya (setiap kelompok 6 mencit), kontrol negatif: dipapar UVB dan tidak diberikan perlakuan; kontrol positif: dipapar UVB dan diolesi krim vitamin E, perlakuan 1: dipapar UVB dan diolesi krim ekstrak kedelai 10%, perlakuan 2: dipapar UVB dan diolesi krim ekstrak kedelai 20%, 30 menit pasca paparan sinar UVB.
5. Ulangi perlakuan sebanyak 5 kali seminggu
6. Setelah hari ke-14, istirahatkan mencit
7. Hari ke-15, pengambilan jaringan kulit mencit.

Prosedur preparasi sampel, yaitu :

- a. Mencit dimatikan menggunakan metode dislokasi servical
- b. Bersihkan area kulit yang akan diambil dengan larutan antiseptik, seperti alkohol isopropil atau povidone-iodine
- c. Tempatkan mencit dalam posisi yang stabil dan nyaman untuk mempermudah akses ke area kulit
- d. Lakukan insisi, dengan membuat sayatan kecil pada kulit menggunakan pisau bedah steril. Sayatan dimulai dari pinggir untuk menghindari kerusakan pada struktur bawah kulit.
- e. Lakukan diseksi, perlahan angkat dan lepaskan lapisan kulit yang diperlukan dengan menggunakan pinset dan alat diseksi untuk meminimalkan kerusakan pada jaringan di bawah kulit.
- f. Lakukan pemotongan jaringan kulit yang diambil dengan ukuran

kurang lebih 1x1 cm.

- g. Jaringan kulit yang diambil ditambahkan *RIPA buffer*, kemudian dihomogenisasi
- h. Sampel disentrifugasi pada kecepatan 2000 rpm selama 20 menit untuk mendapatkan supernatan
- i. Supernatan diambil untuk dilakukan analisa menggunakan metode ELISA

8. Periksa kadar TNF α dan kadar VEGF menggunakan ELISA.

Prosedur analisis kadar TNF α dan VEGF menggunakan metode ELISA, sebagai berikut :

- a. Siapkan reagen dan larutan untuk ELISA
- b. Lakukan pengenceran *standart solution* 120 μ L ke dalam *standart diluent* 120 μ L
- c. Lakukan pengenceran *wash buffer concentrate* 15 ml ke dalam *distilled water* 300 ml
- d. Tambahkan 50 μ L *standard* ke masing-masing *plate*
- e. Tambahkan 40 μ L sampel ke *plate*
- f. Tutup *well* menggunakan *sealer*
- g. Inkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C
- h. Buka *sealer*, cuci *well* sebanyak 3 kali dengan *wash buffer*
- i. Tambahkan 50 μ L *substrate solution A* dan 50 μ L *substrate solution B* ke masing-masing *well*
- j. Inkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C

- k. Tambahkan 50 μ L *stop solution* ke masing-masing *well*
- l. Baca hasil absorbansi menggunakan ELISA *Reader* pada panjang gelombang 450 nm dalam 10 menit setelah penambahan *stop solution*

4.7 Tempat Penelitian

Pembuatan krim ekstrak kedelai dan pemeriksaan metode ELISA dilakukan di Laboratorium SCCR Indonesia Semarang. Pemeliharaan, induksi hewan coba, dan perlakuan hewan coba dilakukan di *Animal Model Research Center* SCCR Indonesia.

4.8 Analisis Data

Data kadar TNF α dan VEGF pada mencit BALB/c akan dilakukan uji deskriptif dengan menggunakan skala data rasio. Dilakukan analisis normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan homogenitas menggunakan *Levene's Test*. Hasil analisis kadar TNF α menunjukkan distribusi data normal ($p > 0,05$) dan homogen ($p > 0,05$), maka uji One-Way ANOVA dilakukan. Terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) di antara semua kelompok penelitian setelah uji One-Way ANOVA, uji *Post Hoc LSD* akan digunakan untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar kelompok penelitian. Nilai signifikansi $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok penelitian.

Hasil analisis kadar VEGF menunjukkan distribusi data tidak normal ($p < 0,05$) dan tidak homogen ($p < 0,05$), dilakukan uji *Kruskal-Wallis*. Terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada semua kelompok penelitian setelah uji

Kruskal-Wallis, dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar kelompok penelitian. Nilai signifikansi $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok penelitian.



4.9 Alur Penelitian



Gambar 4.2. Alur Penelitian

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini untuk mengetahui pengaruh efek krim ekstrak kedelai terhadap kadar TNF α dan VEGF pada kulit mencit betina BALB/c yang dipapar sinar UVB sub kronis. Penelitian eksperimental *in vivo* dilakukan di Laboratorium SCCR Indonesia Semarang. Sampel penelitian berjumlah 30 ekor mencit yang dibagi menjadi 5 kelompok, terdiri dari 6 ekor mencit BALB/c tiap kelompok. Kelompok penelitian terdiri dari kelompok sehat tanpa perlakuan (K1), kelompok kontrol negatif (K2) yang dipapar sinar UVB, kelompok kontrol positif (K3) yang dipapar sinar UVB dan diberi krim vitamin E, kelompok perlakuan 1 (K4) yang dipapar sinar UVB dan diberi krim ekstrak kedelai dosis 10%, dan kelompok perlakuan 2 (K5) yang dipapar sinar UVB dan diberi krim ekstrak kedelai dosis 20%. Punggung mencit yang telah dicukur dipapar sinar UVB lima kali dalam seminggu selama empat belas hari. Pemeriksaan dilakukan pada hari ke lima belas menggunakan sampel jaringan kulit dengan metode ELISA untuk mengukur kadar TNF- α dan VEGF.

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Analisis Kadar Flavonoid dan Fenol Ekstrak Kedelai

Hasil skrining fitokimia ekstrak kedelai menunjukkan terdapat kandungan flavonoid dan fenol. Hasil pengukuran kadar total flavonoid ekstrak kedelai sebesar $64,12 \pm 78$ % (b/b) dan total kandungan fenol ekstrak kedelai sebesar $7,75 \pm 1,03$ % (b/b). Penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa hasil

pengukuran kadar flavonoid yang dihasilkan oleh kedelai varietas Anjasmoro sebesar $0,060 \pm 0,050$ % (b/b).⁸² Penelitian lainnya telah membuktikan *Wild Soybean (Glycine soja)* memiliki kadar total flavonoid sebesar $219,51 \pm 5,18$ % (b/b) dan kadar total fenolik sebesar $41,53 \pm 1,25$ % (b/b).⁸⁶ Penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa kadar total flavonoid lebih tinggi dibandingkan dengan kadar total fenolik.

5.1.2 Tumor Necrotic Factor Alpha (TNF- α)

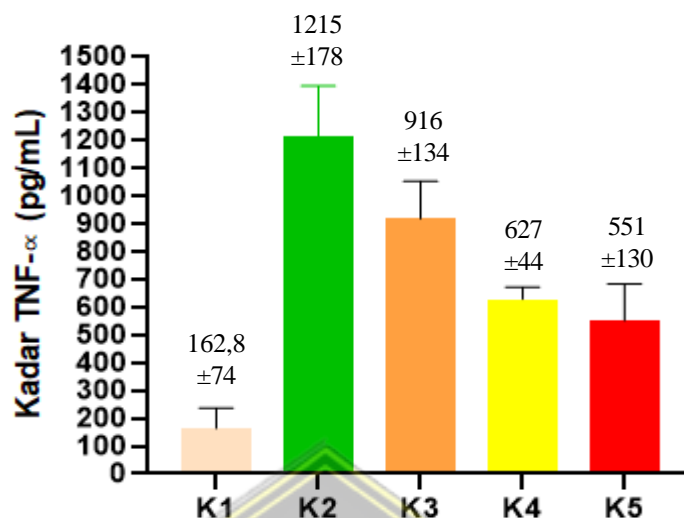
Hasil pemeriksaan kadar TNF- α dengan metode ELISA menggunakan sampel jaringan kulit mencit, data disajikan pada tabel 5.1.

Tabel 5.1. Data Hasil Analisis Kadar TNF- α

VARIABEL	Kadar TNF- α (pg/mL)					p value
	K1	K2	K3	K4	K5	
Rerata	162,8	1215	916	627	551	
Std. Deviasi	± 74	± 178	± 134	± 44	± 130	
Shapiro wilk	*0,678	*0,853	*0,914	*0,225	*0,598	>0,05
Lavene test						*0,108
One Way Anova						*0,000

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

Berdasarkan hasil analisis didapatkan kelompok K2 memiliki kadar TNF- α tertinggi (1215 ± 178 pg/mL) dan K1 memiliki kadar TNF- α terendah ($162,8 \pm 74$ pg/mL). K4 dengan dosis 10% dan K5 dengan dosis 20% menunjukkan penurunan kadar TNF- α dibandingkan dengan kelompok K3.



Gambar 5.1. Rerata kadar TNF- α berbagai kelompok

Keterangan : K1 (kelompok sehat tanpa perlakuan), K2 (Kontrol negatif, dipapar sinar UVB), K3 (Kontrol positif, dipapar sinar UVB dan diberi vitamin E), K4 (Kelompok perlakuan 1, dipapar sinar UVB dan diberi krim ekstrak kedelai 10%), K5 (Kelompok perlakuan 2, dipapar sinar UVB dan diberi krim ekstrak kedelai 20%)

Data dianalisis dengan uji *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui normalitas distribusi data kadar TNF- α pada tiap kelompok. Hasil uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa hasil tiap kelompok terdistribusi normal ($p > 0,05$). Uji *Levene Test* untuk mengetahui homogenitas varian data pada tiap kelompok, didapatkan hasil 0,108 ($p > 0,05$) yang artinya sebaran data homogen. Rata-rata kadar TNF- α terdistribusi normal dan homogen, maka dapat dilakukan uji *One Way Anova*. Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan 0,000, maka disimpulkan bahwa ada perbedaan signifikan ($p < 0,05$) kadar TNF- α antar berbagai kelompok.

Hasil uji *One Way Anova* ada perbedaan signifikan, selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc LSD* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok, data disajikan pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2. Hasil Uji *Post Hoc* LSD Kadar TNF- α

	K1	K2	K3	K4	K5
K1	-	*0,000	*0,000	*0,000	*0,000
K2	*0,000	-	*0,001	*0,000	*0,000
K3	*0,000	*0,001	-	*0,001	*0,000
K4	*0,000	*0,000	*0,001	-	0,334
K5	*0,000	*0,000	*0,000	0,334	-

Keterangan: *Perbedaan signifikan $p < 0,05$

Hasil uji *Post Hoc* LSD kadar TNF- α menunjukkan bahwa adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada tiap kelompok jika dibandingkan dengan kelompok K1. Kelompok K4 dengan K5 yang diberi krim ekstrak kedelai menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok K2 dan K3 ($p < 0,05$). Hasil analisis antara K4 dan K5 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$).

5.1.3 Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

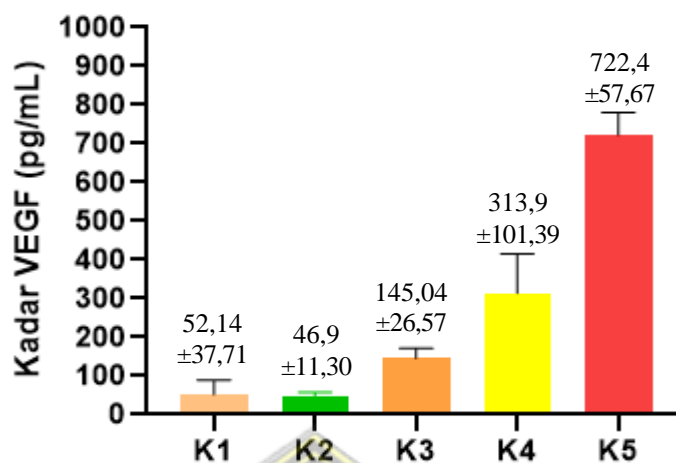
Hasil pemeriksaan kadar VEGF dengan metode ELISA menggunakan sampel jaringan kulit mencit, data disajikan pada tabel 5.3.

Tabel 5.3. Data Hasil Analisis Kadar VEGF

VARIABEL	Kadar VEGF (pg/mL)					p
	K1	K2	K3	K4	K5	
Rerata	52,14	46,9	145,04	313,9	722,4	
Std. Deviasi	$\pm 37,71$	$\pm 11,30$	$\pm 26,57$	$\pm 101,39$	$\pm 57,67$	
Shapiro wilk	*0,011	0,638	0,464	0,381	0,818	$p < 0,05$
Lavene test						*0,045
Kruskal-Wallis						*0,000

Keterangan: **Shapiro-Wilk* = Tidak normal ($p < 0,05$)
 **Levene Test* = Tidak homogen ($p < 0,05$)
 **Kruskal-Wallis* = Signifikan ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil analisis ditemukan pada kelompok K5 memiliki kadar VEGF tertinggi ($722,60 \pm 57,67$ pg/mL) dan K2 memiliki kadar VEGF terendah ($46,90 \pm 11,29$ pg/mL). K4 dengan dosis 10% dan K5 dengan dosis 20% menunjukkan peningkatan kadar VEGF dibandingkan dengan kelompok K3.



Gambar 5.2. Rerata kadar VEGF berbagai kelompok

Keterangan : K1 (kelompok sehat tanpa perlakuan), K2 (Kontrol negatif, dipapar sinar UVB), K3 (Kontrol positif, dipapar sinar UVB dan diberi vitamin E), K4 (Kelompok perlakuan 1, dipapar sinar UVB dan diberi krim ekstrak kedelai 10%), K5 (Kelompok perlakuan 2, dipapar sinar UVB dan diberi krim ekstrak kedelai 20%)

Data yang dianalisis dengan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$), dan uji *Lavene Test* menunjukkan nilai 0,045 ($p < 0,05$) yang artinya sebaran data tidak homogen. Uji *Kruskal-Wallis* digunakan untuk menentukan perbedaan kadar VEGF rata-rata di antara lima kelompok berdasarkan hasil data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan 0,000, maka disimpulkan bahwa ada perbedaan signifikan ($p < 0,05$) kadar VEGF pada antar kelompok. Uji *Mann-Whitney* dilakukan untuk menunjukkan perbedaan kadar VEGF antar kelompok, data disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5.4. Hasil Uji *Mann Whitney* Kadar VEGF

	K1	K2	K3	K4	K5
K1	-	0,465	*0,016	*0,009	*0,009
K2	-	-	*0,009	*0,009	*0,009
K3	-	-	-	*0,028	*0,009
K4	-	-	-	-	*0,009

Keterangan: *Perbedaan signifikan $p < 0,05$

Hasil uji *Mann-Whitney* pada kadar VEGF menunjukkan bahwa kelompok K4 dan K5 yang diberi krim ekstrak kedelai ada perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok K1, K2 dan K3 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa K4 dengan dosis 10% dan K5 dengan dosis 20% berpengaruh secara signifikan terhadap kadar VEGF.

5.2 Pembahasan Hasil Penelitian

Paparan sinar UVB dapat menyebabkan kerusakan kulit yang melibatkan tiga jenis sel kulit, yaitu fibroblast, karatinosit, dan infiltrasi neutrophil.⁷⁹ Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa paparan sinar UVB akan menimbulkan gejala klinis yaitu eritema, edema, kulit menjadi kering, kerutan, dan hiperpigmentasi. Pada pewarnaan *Masson's trichome*, *photoaging* akan mengakibatkan penurunan elastin dan kolagen.⁷⁸

Kadar TNF- α pada kelompok kontrol negatif menunjukkan nilai lebih tinggi dibandingkan kontrol sehat. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa secara *in vivo* paparan sinar UVB akan meningkatkan TNF- α .⁶⁸ Paparan sinar UVB menghasilkan ROS dan mengaktifasi jalur NF-kB yang memicu transkripsi gen TNF- α sehingga meningkatkan produksi dan sekresi TNF- α oleh sel kulit dan sel imun. Paparan sinar UVB juga dapat mengakibatkan kerusakan DNA yang menyebabkan aktivasi sitokrom C oleh mitokondria yang berujung apoptosis. Apoptosis kemudian akan menyebabkan terbentuknya DAMP yang memicu inflamasi dan meningkatkan pro-inflamasi, seperti TNF- α .¹

Berdasarkan hasil penelitian kelompok krim ekstrak kedelai dosis 10% maupun 20% menunjukkan penilaian kadar TNF- α lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak kedelai mengandung isoflavon yang merupakan antioksidan yang tinggi dan sebagai antiinflamasi, yang berperan melindungi sel-sel kulit dari paparan sinar UVB, menekan aktivasi NF-kB dan MAPK, sehingga dapat menurunkan produksi TNF- α .⁸⁴ Kandungan zat aktif yang ada di dalam kedelai berperan mengurangi respon inflamasi pada kulit akibat paparan sinar UVB. Hasil penelitian ini diperkuat dengan dengan hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa pemberian oral ekstrak kedelai 100 mg/kg/hari terbukti menghambat produksi TNF- α .⁵

Kadar TNF- α pada kelompok krim ekstrak kedelai dosis 20% tidak ada perbedaan signifikan dibandingkan dengan kelompok krim ekstrak kedelai dosis 10%. Hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu adanya toleransi terhadap dosis tertentu, dimana tubuh memiliki kapasitas terbatas untuk memetabolisme senyawa aktif, sehingga peningkatan pada dosis 20% masih kurang optimal menurunkan respon inflamasi meskipun sudah mempengaruhi faktor pertumbuhan. Faktor lainnya yaitu bioavailabilitas senyawa aktif yang terbatas pada dosis tinggi, tetapi penelitian ini tidak menguji bioavailabilitas ekstrak kedelai.⁸⁵ Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa penggunaan dosis yang lebih tinggi terbukti optimal menurunkan TNF- α , seperti pada penelitian dengan

pemberian oral lunasin-ekstrak kedelai 350 mg/KgBB lebih optimal menurunkan produksi TNF- α dibandingkan dengan dosis 300 mg/KgBB maupun 250 mg/KgBB.⁶⁸

Kadar VEGF pada kelompok negatif tidak ada perbedaan signifikan dibandingkan dengan kelompok sehat, dikarenakan pada hari ke empat belas dalam keadaan fisiologis sudah masuk dalam fase proliferasi yang ditandai dengan tingginya kadar VEGF. Angiogenesis yaitu pembentukan pembuluh darah baru yang sudah ada dan meningkatkan permeabilitas vascular sehingga lebih banyak oksigen dan nutrisi yang dibutuhkan untuk regenerasi kulit, sehingga meningkatkan produksi elastin dan kolagen. Hari ke empat belas juga terjadi fase granulasi sudah terbentuk dengan baik, ditandai dengan sel-sel fibroblast yang aktif dan pembuluh darah baru.^{2,31}

Hasil penelitian pada kelompok krim ekstrak kedelai dosis 10% maupun 20% menunjukkan kadar VEGF jauh lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol, dikarenakan pemberian ekstrak kedelai dapat menekan inflamasi, yang kemudian fisiologi tubuh akan berpindah ke fase proliferasi yang salah satunya ditandai dengan peningkatan VEGF.² Kadar VEGF pada kelompok krim ekstrak kedelai dosis 20% menunjukkan hasil lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok krim ekstrak kedelai dosis 10%. Hal ini dikarenakan pada hari ke empat belas sudah terjadi peningkatan kadar VEGF pada fase proliferasi yang terdiri dari tiga mekanisme yaitu neoangiogenesis, pembentukan fibroblast dan re-

epitelisasi.² Ekstrak kedelai mengandung senyawa aktif seperti isoflavon dan asam fenolat sebagai antioksidan yang dapat memengaruhi berbagai jalur kimia dalam tubuh. Isoflavon khususnya genistein dan daidzein, memiliki sifat fitoestrogenik yang dapat mengikat reseptor estrogen pada sel-sel kulit. Saat isoflavon terikat dengan reseptor estrogen, memodulasi jalur sinyal P13K/Akt dan MAPK/ERK. Aktivasi PI3K/Akt meningkatkan stabilitas mRNA VEGF dan translasi proteinnya, sehingga meningkatkan kadar VEGF.⁸⁰ Penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa pemberian subkutan genistein aglikon berpengaruh dalam proses penyembuhan luka dengan meningkatkan ekspresi VEGF.⁸¹

Penelitian ini sudah berhasil membuktikan ekstrak kedelai dosis 10% dan 20% mampu menekan inflamasi dengan menurunkan kadar TNF- α yang mendorong perpindahan ke fase proliferasi yang ditandai dengan peningkatan VEGF pada kulit mencit BALB/c yang dipapar sinar UVB sub kronis. Penelitian ini perlu dilanjutkan dengan melihat efek dari fraksi-fraksi yang terdapat di dalam kedelai yang paling optimal sebagai antiinflamasi dan antioksidan.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh krim ekstrak kedelai terhadap Kadar TNF- α dan VEGF pada kulit mencit betina BALB/c yang dipapar sinar UVB sub kronis, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

- a. Krim ekstrak kedelai berpengaruh terhadap kadar TNF- α dan kadar VEGF pada kulit mencit BALB/c yang dipapar sinar UVB.
- b. Ada perbedaan signifikan kadar TNF- α pada kelompok K4 (dipapar sinar UVB dan diberi ekstrak kedelai 10%) dan K5 (dipapar sinar UVB dan diberi ekstrak kedelai 20%) dibandingkan dengan kelompok kontrol.
- c. Ada perbedaan signifikan kadar VEGF pada kelompok K4 (dipapar sinar UVB dan diberi ekstrak kedelai 10%) dan K5 (dipapar sinar UVB dan diberi ekstrak kedelai 20%) dibandingkan dengan kelompok kontrol.

6.2 Saran

Penelitian perlu dilanjutkan dengan menggunakan fraksi-fraksi ekstrak kedelai untuk menghasilkan efek yang lebih optimal terhadap kadar TNF- α dan VEGF.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ismiralda Oke, Y. S. (2021). Tinjauan Pustakan : Fotobiologi Ultraviolet Pada Jaringan Kulit. *Mandala of Health*, 13 No 2, 33-55. doi:10.20884/1.mandala.2023.16.8379
2. Nova Primadina Achmad Basori, D. S. (2019). Proses Penyembuhan Luka Ditinjau Dari Aspek Mekanisme Seluler dan Molekuler. *Qanun Medika*, 3 No 1.
3. Glass Graeme Ewan. (2020). Cosmeceutical: The Principles and Practice of Skin Rejuvenation by Nonprescription Topical Therapy. *Aesthetic Surgery Journal Open Forum*. DOI: 10.1093/asjof/ojaa038
4. Cahya Khairani Kusumawulan, N. S. (2022). *Review : Efektivitas Sari Kedelai sebagai Anti-aging dalam Kosmetik* (Vol. 8). Sumedang, Jawa Barat, Indonesia: Majalah Farmasetika. doi:https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v8i1.41761
5. Young Chang Cho, Han J. B., Park S.I. (2019). Photoprotective Effects of Soybean Extract against Uv-Induced Damage in Human Fibroblast and Hairless Mouse Model. *Journal of Animal Reproduction and Botechnology*, 20-29. doi:https://doi.org/10.12750/JARB.34.1.20
6. Sumarawati T, Chodijah., Fatmawati D. (2023). Effect of Combination of Soybean and Phaleria macrocarpa Ethanol Extract on IL6, TNFalpha, VEGF, and Fibroblast in Mice Exposed to UVB. *Pharmacogn J*, 15 no 1, 6-13. doi:10.55530/pj.2023.15.2
7. J.F. Sanchez Perez, D. V.-A. (2019). Relationship between ultraviolet. index (UVI) and first-, second- and third-degree sunburn using the Probit methodology. doi:10.1038/s41598-018-36850-x
8. Lestari Wahyu, Puspita Dinda Ayu (2023). The Effect of Sun Exposure on the Severity Degree of Photoaging and Skin Hydration on Service Workers at dr. Zainoel Abidin Regional General Hospital Banda Aceh. *Periodical of Dermatology and Venereology*. https://e-journal.unair.ac.id/BIKK
9. Rachmani K, Y. S. (2023). Comparison of Sun Protection Factor (SPF) 30 Persistence Between Inorganic and Organic Sunscreen in Swimmers: Protocol for a Multicenter, Randomized, Noninferiority, Split-Body, Double-Blind Clinical Trial. *JMIR Dermatology*, 1-9. doi:10.2196/41633
10. Jang Dan-in, Lee A-Hyeon, Shin Hye-Soon. (2021, Maret). The Role of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) in Autoimmune Disease and Current TNF- α Inhibitors in Therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences*. 22, 2719. https://doi.org/10.3390/ijms22052719
11. Jang, D. e. (2021). The role of tumor necrosis factor alpha in autoimmune disease and current TNF alpha inhibitor in therapeutics. *Int J Mol Sci*, 22.
12. Gonzales Caldito, N. (2023). Role of tumor necrosis factor-alpha in the central nervous system: a focus on autoimmune disorders. *Frontiers in Immunology*. doi:https://doi.org/10.1016/j.ad.2018.04.003
13. Munera Campos, M. B. (2018). Paradoxical Reaction to Biologic Therapy in Psoriasis: Review of the Literature. *Actas Dermo-Sifiliograficas*. doi:https://doi.org/10.1016/j.ad.2018.04.003

14. Stenvikel, P. e. (2005). IL-10, IL-6, and TNF alpha: Central factors in the altered cytokine network of uremia - The good, the bad, and the ugly. *Kidney Int.* doi:10.1111/j.1523-1755.2005.00200.x.
15. Laha Dipranjan, Grant Robert, Mishra prachi, Nilubol Naris. (2021). The Role of Tumor Necrosis Factor in Manipulating the Immunological Response of Tumor Microenvironment. *Frontiers in Immunology.* doi: 10.3389/fimmu.2021.656908
16. Li Ju, Zhang Zhongyuan.(2021). Risk of Adverse Events After Anti-TNF Treatment for Inflammantory Rheumatological Disease. A Meta-Ananalysis. *Frontiers in Pharmacology.* doi:https://doi.org/10.3389/fphar.2021.746396
17. Silva, L. a. (2019). The Role of TNFalpha as a Proinflamantory Cytokine in Pathological Processes. *Open Dent J.* doi:10.2174/1874210601913010332
18. Lee, K. J., Park K.H. (2019). Alleviation of ultraviolet-B radiation-induced photoaging bt a TNFR antagonistic peptide, TNFR2-SKE. *Mol Cells.* doi:10.14348/molcells.2018.0423
19. Male D, M. V. (2020). *Immunology E-book.* Elsevier Health Sciences.
20. Singh M, T. J. (2017). Emergine cytokine biosensors with optical detection modalities and nariomaterial-enabled signal enhancement. *Sensors (Switzerland).* doi:https://doi.org/10.3390/s17020428
21. Sule Rasheed, Rivera Gabriela. (2023). Western Blotting (immunoblotting): history, theory, uses, protocol and problems. *BioTechnique, 74.* doi:10.2144/btn-2022-0034
22. Ribeiro Andreia, Ritter Thomas. (2016). Development of flow cytometry-based potency assay for measuring the *in vitro* immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Immunology Letters, Vol 177, p 38-46.* DOI: https://doi.org/10.1016/j.imlet.2016.07.010
23. Nourian Mahyar, Chaleshi Vahid. (2017). Evaluation of tumor necrosis factor (TNF)- α mRNA expression level and the rs1799964 polymorphism of the TNF- α gene in peripheral mononuclear cells of patients with inflammatory bowel diseases. *Biomedical Reports, p 698-702.* DOI: <https://doi.org/10.3892/br.2017.908>
24. Woon Kim So, Roh Jin, Sik Park Chan. (2016). Immunohistochemistry for Pathologist: Protocols, Pitfalls, and Tips. *Journal of Pathology and Translational Medicine.* 50, page 411-418. DOI: <https://doi.org/10.4132/jptm.2016.08.08>
25. Manole E, e. a. (2019). Immunoassay Technique Highlighting Biomarkers in Immunogenetic Disease. *Immunogenetics.* doi:10.5772/intechopen.75951.
26. Mitchell J.L, e. a. (2023). DEvelopment of an enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of feline tuberculosis. *Vet Immunol Immunopathol.* doi:10.1016/j.vetimm.2022.110538.
27. Ye X, G. J. (n.d.). (2021). A structural overview of vascular endothelial growth factors pharmalogical logands: From macromolecules to designed peptidomimetics. *Molecules.* doi:https://doi.org/10.3390/molecules26226759
28. Johnson Kelly E, Wilgus Traci A (2014). Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis in the Regulation of Cutaneous Wound Repair. *Advances in Wound Care, 3.* doi:10.1089/wpund.2013.0517

29. Geindreau M, G. F. (2021). Vascular endothelial growth factor, a key modular of the anti tumor immune response. *International Journal of Molecular Sciences*. doi:<https://doi.org/10.3390/ijms22094871>
30. Wu Jing-biao, Tang Ya-ling, Liang Xin-hua . (2018). Targeting VEGF pathway to normalize the vasculature: an emerging insight in cancer therapy. *OncoTarget and Therapy*,11.6901-6909
31. Ciarlillo Domenic, Celeste Christophe. (2017). A hypoxia response element in the Vegfa promoter is required for basal Vegfa expression in skin and for optimal granulation tissue formation during wound healing in mice. *PlosOne*, 12(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180586>
32. Beishline Kate, Clifford Jane Azizkhan. (2014). Sp1 and the 'hallmarks of cancer'. *The Febs Journal*, 282. 224-258. doi:10.1111/febs.13148
33. Peach C.J, e. a. (2018). Molecular pharmacology of VEGF-A isoform: Binding and signalling at VEGFR2. *International Journal of Molecular Sciences*.doi:<https://doi.org/10.3390/ijms19041264>
34. Zepeda-Orozco D, W. H. (2017). EGF regulation of proximal tubule cell proliferation and VEGF-A secretion. *Physiol Rep*. doi:10.14814/phy2.13453
35. Hartono Stella, Bedell Victoria, Alam Kayum. (2021). Vascular Endothelial Growth Factor as an Immediate-Early Activator of Ultraviolet-Induced Skin Injury. *Mayo Clinic, Department of Biochemistry and Molecular Biology*. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2021.08.018>
36. Stevens Megan, Oltean Sebastian. (2019). Modulation of Receptor Tyrosine Kinase Activity through Alternative Splicing of Ligands and Receptors in the VEGF-A/VEGFR Axis. *Cells*, 8. doi:10.3390/cells8040288
37. Dillon M, e. a. (2021). Progress on ras/mapk signaling research and targeting in blood and solid cancers. *cancers*. doi:<https://doi.org/10.3390/cancers13205059>
38. Napione Lucia, Alvaro Maria, Bussolino Federico. (2016). VEGF-Mediated Signal Transduction in Tumor Angiogenesis. *Physiologic and Pathologic Angiogenesis-Signaling Mechanism and Targeted Therapy*. doi: <http://dx.doi.org/10.5772/66764>
39. Yang H L, e. a. (2023). The skin hydration and anti-inflammatory potential of zerumbone, a natural sesquiterpene of Zingiber zerumbet, enhanced Src/ERK-mediated HAS-2/AQP-3 and inhibited NFKb/AP_1 expression in UVB-irradiated human keratinocytes. *J Funct Food*.
40. Asadamongkol Bralipisut, Zhang H John. (2014). The development of hyperbaric oxygen therapy for skin rejuvenation and treatment of photoaging. *Medical Gas Research*, 4:7
41. Ceric S, Pojskic N. (2020). Immunohistochemical Expression And Prognostic Significance Of VEGF-C Well Differentiated Thyroid Cancer. *Acta Endocrinologica*, vol XVI no 4, p 409-416. DOI: <https://doi.org/10.4183%2Fae.2020.409>
42. Sudaric A. (2020). Soybean - Quality and Utilization in Soybean for Human Consumption and Animal Feed. doi:10.5772/intechopen.93942.
43. Krisnawati A, Muchlish Adie. (2017). The leaflet shape variation from several soybean genotypes in Indonesia. *Biodiversitas*. doi:10.13057/biovid/d180147

44. Darsono Damar Cipto, Nandariyah, Sugijono. (2018). Morphology and cytology of five soybean varieties (*Glycine Max*) treated with phosphate fertilizer. *Cell Biology & Development*, 2. 78-87. DOI: 10.13057/cellbioldev/v020205
45. Tambunan Syariani Br, Afkar, Sebayang Nico Syahputra. (2019). Growth and Yields Response of Some Varieties of Soybean (*Glycine Max (L) Merill*) on Ultisol Soil. *Indonesian Journal of Agricultural Research*. Vol 2. 196-204. doi:10.32734/injar.v2i3.2035
46. Caballero B, Finglas P, Todlra F. (2015). Encyclopedia of food and health. *Academic Press*.
47. Pang D, et al. (2020). Soy isoflavones improve the oxidative stress induced hypothalamic inflammation and apoptosis in high fat diet-induced obese male mice through PGC1-alpha pathway. *Aging (Albany, NY)*. doi:10.18632/aging.103197
48. Singh B, Yadav D, Vij S. (2019). Soybean Bioactive Molecules: Current Trend and Future Prospective. *Refrence Series in Phytocgemistry*. doi:10.1007/978-3-319-78030-6_4
49. Li, P. Liu Y, Gao M, Fu J, Guo Y (2022). Dietary Soy Saponin Improves Antioxidant and Immune Function of Layer Hens. *J Poult Sci*. doi:10.2141/jpsa.0210073
50. Intakes R. (2014). Vitamin E-Health Professional Fact Sheet Vitamin E Fact Sheet forHealths Professionals. *Nih*.
51. Kim I S. (2022). Current perpspectiveon the beneficial effects of soybean isoflavones and their metabolites on plants. *Food Science and Biotechnology*. doi:https://doi.org/10.1007/s10068-022-01070-7
52. Jacob, T. N. A., Siswati, A. S., Budiyanto, A., Triwahyudi, D., Sirait, S. A. P., Budianti, W. K., Dwiwana, R. F., Widasmara, D., Rita Maria, S., & Tanojo, H. 2020. Pengaruh Sinar Ultra Violet Terhadap Kesehatan Kajian Terhadap Berjemur (Sun Exposures): *Perhimpunan Dokter Spesialis Kulit Dan Kelamin Indonesia*. Available from: <https://perdoski.id/news/detail/1761-pengaruh-sinar-ultra-violet-terhadap-kesehatan-kajian-terhadap-berjemur-sun-exposures>
53. Tan Y, Wang F. (2020). Identification of factors associated with minimal erythema dose variations in a large-scale population study of 22 146 subjects. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. doi:10.1111/jdv.16206
54. Ron-Doitch S., e. a. (2021). EDNA-mediated cutaneous protection againts UVB damage conferred by staphylococcal epidermal colonization. *microorganisms*. doi:10.3390/mucroorganisms9040788
55. Geng Ruixuan, Kang Seong Gook. (2023). α -Ionone protects againts UVB-induced photoaging in epidermal keratinosit. *Chinese Herbal Medicines*, 15. 132-138. <https://doi.org/10.1016/j.chmed.2022.09.003>
56. Singh J., Chopra D., Dwivedi A., Ray R. (2018). Photoaging in photocarcinogenesisand photoprotection. doi:10.1007/978-981-10-5493-8_7
57. Kalangi, S. J. R. (2014). Histofisiologi Kulit. *Jurnal Biomedik (Jbm)*, 5(3), 12–20.<https://doi.org/10.35790/jbm.5.3.2013.4344>

58. Yousef H., Alhaji M., Sharma S. (2020). Anatomy, SKin (Integument), Epidermis. *StatPearls Publ.*
59. Salminen A., Kaarniranta K. Kauppinen A. (2022). A photoaging: UV radiation induced inflammation and immunosuppression accelerate the aging process in the skin. *Inflammation Research*. doi:<https://doi.org/10.1007/s00011-022-01598-8>
60. Hossain M.R., Ansary. T. (2021). Diversified stimuli-induced inflammatory pathway cause skin pigmentation. *International Journal of Molecular Sciences*. doi:<https://doi.org/10.3390/ijms22083970>
61. Ke Y., Wang X. (2021). TGF β Signaling in Photoaging and UV-Induced Skin Cancer. *Journal of Investigative Dermatology*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jid.2020.11.007>
62. Guo K., et al. (2022). Cryptotanshinone protects skin cells from ultraviolet radiation- induced photoaging via its antioxidant effect by reducing mitochondrial dysfunction and inhibiting apoptosis. *Front Pharmacol*. doi:10.3389/fphar.2022.1036013
63. Han J., Jang Y. (2022). A Genomic Approach to Identify the Different between Acute and Chronic UVB Exposures in the Causation of Inflammation and Cancer. *J Cancer Prev*. doi:10.15430/jcp.2022.27.4.199
64. Zhou W., Zhu Y. (2016). The Role of ultraviolet radiation in the pathogenesis of pterygia (Review). *Molecular Medicine Reports*. doi:<https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5223>
65. Ansary T.M., Hossain. M. (2021). Inflammatory molecules associated with ultraviolet radiation-mediated skin aging. *Int J Mol Sci*, 22.
66. Hartono S.P., et al. (2022). Vascular Endothelial Growth Factor as an Immediate-Early Activator of Ultraviolet-Induced Skin Injury. *Mayo Clinic Proceedings*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2021.08.018>
67. Luh Okta Saktiadewi Tanjung., Made Winarsa Ruma. (2022). The extract of Red Beetroot (Beta Vulgaris L) Prevent Tumor Necrosis Factor-Alpha Levels and Prevent Increased Sunburn in Epidermal Cell in Rats Exposed to UVB. *Int J Res Publ*. doi:10.47119/ijrp1001051720223672
68. Kusmardi K., Tamara R., Eustuningtyas., Tedjo A. (2019). A effect of lunasin-rich soybean extract upon TNF α expression on colonic epithelial cells of mice induced by azoxymethane/dextran sodium sulfate. *Int J Appl Pharm*. doi:10.22159/ijap.2019.v11s6.33527.
69. Juliana C., Lister I. Girsang E., Nasution A.N., Widowati. (2020). Antioxidant and Elastase Inhibitor from Black Soybean (Glycine max L) and Its Compound (Daidzein). *J Biomed Transl Res*. doi:10.14710/jbtr.v6i1.5540
70. Tang Xiaoyou, Yang Tingyi, Yu Daojiang. (2024). Insights and future perspective of ultraviolet radiation (UV) exposure: Friends and foes to the skin and beyond the skin. *Environment International*, 185. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2024.108535>
71. Yangfang Fan, Jeong Joe Hoon, You Ga Young, Park Ji Ung. (2015). An Experimental Model Design For Photoaging. *The Journal Of Craniofacial Surgery*
72. Hagavane Siddhant, Sonawane Sneha, Katkale Akshay, Kunde Vishvam.

- (2022). Review on cream as topical drug delivery system. *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(1), 21-30.
73. Khare Sameeha, Abhyankar Shalaka, Kuchekar Ashwin, Gawade Ashwini. (2021). A Mini Review - Pharmaceutical Cream. *Scholar Academic Journal of Pharmacy*, 10, 60-62. doi:10.36347/sajp.2021.v10i04.001
74. Lalita Chauchan., Shalini Gupta. (2020). Cream: A review on Classification, Preparation Methods, Evaluation and its Applications. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 281-289. doi:http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v10i5-s.4430
75. David, D. (2014). Prodrug Strategies for Enhancing the Percutaneous Absorption of Drugs. *Molecules*, 19. doi:10.3390/molecules191220780
76. Wang Weiye, Xu Suowen, Yin Meimei, Jin Zheng Gen. (2015). Essential roles of Fab1 tyrosine phosphorylation in growth factor-mediated signaling and angiogenesis. *Int J Cardiol*, 15, 180-184. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.10.148
77. Darajat Nur Zakiyah, Chaerunnisa Anis Yohana, Abdassah Marline. (2022). Kosmeseutikal Dengan Zat Aktif Dalam Sistem Liposom. *Journal of The Indonesia Society of Integrated Chemistry*. DOI: 10.22437/jisic.v14i1/13989
78. Her Young, Shin Bich Na, Lee Yun Lyul. (2019). *Oenanthe Javanica* Extract Protects Mouse Skin from UVB Radiation via Attenuating Collagen Disruption and Inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 1435. Doi:10.3390/ijms20061435
79. Tanveer MA, Rashid H, Tasduq SA.(2023). Molecular basis of skin photoaging and therapeutic interventions by plant-derived natural product ingredients: A comprehensive review. *Heliyon*. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.el.e13580
80. Liu Tao, Li Nan. (2019). Recent advances in the anti-aging effects of phytoestrogens on collagen, water content, and oxidative stress. *Wiley*. DOI: 10.1002/ptr.6538
81. Sonwani Hari Prasad. (2024). In An Incisional Model of Wound Healing, Genistein Aglycone Enhances Skin Recovery: A Comparison with Raloxifene and Estradiol in Ovariectomized Rats Is Presented. *Journal of Dermatology Research*. Vol 5, p 1-10. DOI: https://doi.org/10.46889/JDR.2024.5102
82. Hasanah Siti USwatun, Prayugo Diki, Nurlita Nitta. (2019). Total Flavonoid Levels In Various Varieties Of Soybean Seeds (*Glycine max*) In Indonesia. *Jurnal Ilmiah Farmako Baharis*, Vol.10; No2, p 132-138. https://journal.uniga.ac.id/index.php/JFB
83. Il Choi Sun, Dong Jung Tae, Yeon Cho. (2019). Anti-photoaging effect of fermented agricultural by-products on ultraviolet B-irradiated hairless mouse skin. *International Journal Of Molecular Medicine*. Vol 44, p 559-658. DOI: 10.3892/ijmm.2019.4242
84. Sup Kim II. (2021). Current Perspectives on the Beneficial Effects of Soybean Isoflavone and Their Metabolites for Humans. *antioxidant*. Vol 10. DOI: https://doi.org/10.3390/antiox10071064
85. Stielow Marlina, Witczynska Adrianna, Kubryn Natalia. (2023). The Bioavailability of Drugs-The Current State of Knowledge. *Molecules*. 28,

8038. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28248038>
86. Chen Qianru, Wang Xianxian. (2021). Comparison of Phenolic and Flavonoid Compound Profiles and Antioxidant and α -Glucosidase Inhibition Properties of Cultivated Soybean (*Glucine max*) and Wild Soybean (*Glycine soja*). *MDPI Plants*. 10, 813. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants10040813>
87. Sarihati Iga Dewi. (2017). Makrofag dan aterosklerosis. *Meditory*. hal 61-67. DOI: <http://ejournal.poltekkes-denpasar.ac.id>

