

**PENGARUH KRIM EKSTRAK KULIT BATANG NANGKA (*Artocarpus heterophyllus*) TERHADAP EKSPRESI IL-1 α DAN IL-6
(Study Eksperimental *In vivo* pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Dipapar Sinar UVB Akut)**

TESIS

Untuk memenuhi persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Kharisma Handayani

MBK.22.20.010317

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

TESIS

**PENGARUH KRIM EKSTRAK KULIT BATANG NANGKA (*Artocarpus heterophyllus*) TERHADAP EKSPRESI IL-1 α DAN IL-6
(Study Eksperimental *In vivo* pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Dipapar Sinar UVB Akut)**

Disusun Oleh:

Kharisma Handayani

MBK.22.20.010317

Yang dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 29 Agustus 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Dr. Dra. Atina Husaana, Msi., Apt
NIK. 210198047

Dr. dr. Hadi Sarosa M.Kes
NIK. 210101059

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

Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si.Med
NIK. 210.199.050

PERNYATAAN

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



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT sehingga tesis penulis berjudul **PENGARUH KRIM EKSTRAK KULIT BATANG NANGKA (*Artocarpus heterophyllus*) TERHADAP EKSPRESI IL-1 α DAN IL-6 (Study Eksperimental *In vivo* pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Dipapar Sinar UVB Akut))** ini dapat terselesaikan.

Tesis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai Gelar Magister Ilmu Biomedik Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Penulis ingin menyampaikan terima kasih sedalam-dalamnya kepada :

1. Prof. Dr. H. Gunarto S.H. MHum selaku rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H, Sp.KF selaku Dekan Fakultas Kedokteran Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si.Med selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang
4. Dr. Dra. Atina Husaana, M.Si, Apt selaku dosen pembimbing pertama yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.
5. Dr. dr. Hadi Sarosa M.Kes selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.

6. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, SpKK(K) selaku dosen penguji pertama yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.
7. Dr. dr Pasid Harlina SpKK selaku dosen penguji kedua yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu dan kesibukannya saat bimbingan tesis.
8. Dr. dr Sri Priyantini Sp.A selaku dosen penguji ketiga yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu dan kesibukannya saat bimbingan tesis.
9. Seluruh tenaga pendidik dan staf administrasi di Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang telah memberikan banvak dukungan selama proses penyusunan tesis.
10. Suami tercinta yang selalu memberikan semangat dalam menyelesaikan tesis ini.
11. Teman-teman dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan dalam penyusunan tesis ini terimakasih atas dukungannya.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan penelitian ini. Oleh karena itu, saran-saran yang membangun dari manapun akan diterima dengan terbuka. Harapan penulis semoga penelitian ini bermanfaat untuk berbagai pihak.

Semarang, Agustus 2024
Penulis,

(Kharisma Handayani, Isk)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR SINGKATAN	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
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 Teoritis.....	4
1.4.2. Manfaat Praktis.....	4
1.5. Originalitas Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1. Ekspresi IL-1 α	8
2.2. <i>Interleukin-6</i>	10
2.3. Photodamage	12
2.4. Pohon Nangka.....	15
2.4.1. Manfaat Pohon Nangka	16
2.4.2. Kandungan Pohon Nangka	19
2.4.3. Efek Fotoproteksi Ekstrak Kulit Batang Nangka	22
2.4.4. Sistem pemberian obat melalui kulit	23
2.4.5. Krim.....	25

2.5. Hubungan Ekstrak Kulit Nangka dan Paparan sinar UVB akut.....	26
BAB III KERANGKA TEORI, KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	28
3.1. Kerangka Teori.....	28
3.2. Kerangka Konsep.....	30
3.3. Hipotesis Penelitian.....	30
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN.....	31
4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	31
4.2. Populasi dan Teknik Pengambilan Sampel.....	32
4.2.1. Populasi.....	32
4.2.2. Teknik Pengambilan Sampel.....	33
4.2.3. Jumlah Sampel.....	33
4.3. Variabel dan Definisi Operasional.....	34
4.3.1. Variabel.....	34
4.3.2. Definisi Operasional.....	35
4.4. Bahan Penelitian.....	36
4.5. Peralatan Penelitian.....	36
4.6. Cara Penelitian.....	37
4.6.1. Perolehan <i>Ethical Clearence</i>	37
4.6.2. Persiapan Sebelum Perlakuan.....	37
4.6.3. Pembuatan Krim Ekstrak Kulit Batang Nangka.....	38
4.6.4. Persiapan Uji Fitokimia.....	40
4.6.5. Penetapan Dosis.....	41
4.6.6. Perlakuan Hewan Coba.....	41
4.6.7. Terminasi Tikus.....	43
4.6.8. Sediaan Biopsi Kulit.....	43
4.6.9. Analisis Kuantitatif Ekspresi IL-1 α dan IL-6 menggunakan IHC.....	44
4.7. Alur Penelitian.....	46
4.8. Jadwal Pelaksanaan Penelitian.....	47
4.9. Analisis Data.....	47

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	48
5.1. Hasil Penelitian.....	49
5.1.1. Ekstraksi Kulit Batang Nangka dan Uji Kualitatif Skrining Fitokimia.....	49
5.1.2. Efek Pemberian Krim Ekstrak Kulit Batang Nangka Terhadap Ekspresi IL-1 α Pada Tikus Galur Wistar Yang Dipapar UVB Akut.....	50
5.1.3. Efek Pemberian Krim Ekstrak Kulit Batang Nangka Terhadap Ekspresi IL-6 Pada Tikus Galur Wistar Yang Dipapar UVB Akut.....	54
5.2. Pembahasan Hasil Penelitian.....	57
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	63
6.1. Kesimpulan.....	63
6.2. Saran.....	63
DAFTAR PUSTAKA.....	64
LAMPIRAN.....	71



DAFTAR SINGKATAN

- PDGF : *Platelet-derived growth factor*
ROS : *Reactive Oxygen Species*
TGF : *Transforming growth factor beta*
UVB : *Ultraviolet B*
UVR : *Transforming growth factor beta*



DAFTAR TABEL

Tabel 1.1.	Originalitas Penelitian.....	5
Tabel 4.1.	Formula Pembuatan Krim Ekstra Kulit Batang Nangka	39
Tabel 5.1.	Uji skrining fitokimia ekstrak kulit batang nangka	50
Tabel 5.2.	Data hasil Penelitian Ekspresi IL-1 α dan Ekspresi IL-6.....	50
Tabel 5.3.	Uji <i>post hoc</i> LSD ekspresi IL-1 α pada masing-masing Kelompok.	53
Tabel 5.4.	Uji <i>Mann-Whitney</i> ekspresi IL-6 pada masing-masing Kelompok	56



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Lingkar inflamasi yang digerakkan oleh IL-1	10
Gambar 2.2.	Ilustrasi Interleukin 6.....	12
Gambar 2.3.	Ilustrasi <i>Photodamage</i>	14
Gambar 2.4.	Kulit batang Nangka dan Nangka (<i>Artocarpus heterophyllus Lamk</i>).....	16
Gambar 2.5.	Rumus senyawa aktif dalam kulit batang nangka ²²	22
Gambar 2.6.	Struktur Dasar Senyawa Flavonoid ²²	23
Gambar 3.1.	Kerangka Teori.....	29
Gambar 3.2.	Kerangka Konsep	30
Gambar 4.1.	Skema Rancangan Penelitian	31
Gambar 4.2.	Alur Penelitian.....	46
Gambar 5.1.	(A) Gambaran immunohistokimia ekspresi IL-1 α pada sampel kulit tikus dan (B) Grafik ekspresi IL-1 α pada seluruh kelompok penelitian.	52
Gambar 5.2.	(A) Gambaran immunohistokimia ekspresi IL-6 pada sampel kulit tikus dan (B) Grafik ekspresi IL-6 pada Seluruh Kelompok Penelitian	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical Clearance</i>	71
Lampiran 2. Skrining fitokimia.....	72
Lampiran 3. Hasil keterangan selesai dari IBL.....	73
Lampiran 4. Hasil keterangan selesai dari UGM	78
Lampiran 5. Hasil untuk pembelajaran kelompok perlakuan	79
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian.....	87



ABSTRAK

Latar belakang: Radiasi UVB dapat merusak DNA keratinosit, meningkatkan ROS, dan memicu pelepasan sitokin proinflamasi IL-1 α dan IL-6. Ekstrak kulit batang nangka mengandung flavonoid yang bersifat antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan menganalisis efek krim ekstrak kulit batang nangka terhadap ekspresi IL-1 α dan IL-6 pada kulit tikus Wistar yang terpapar UVB akut.

Metode: Penelitian eksperimental dengan *post test control group* yang terdiri dari 4 kelompok yaitu kelompok kontrol normal, kontrol negatif, kelompok ekstrak krim ekstrak kulit batang nangka 2% (EKBN 2%) dan krim ekstrak kulit batang nangka 4% (EKBN 4%). Tikus dipapar UVB dengan alat sinar UV-B *light broadband* dengan dosis 1 *Minimal Eriteme Dose* (MED) atau energi 360 mJ/cm² lama pemaparan 6 menit selama 5 hari dengan jarak 30 cm dari permukaan kulit tikus. Pada kelompok EKBN 2% dan 4% pada punggung tikus setiap hari dioleskan krim selama 5 hari, sedangkan kontrol negatif menerima base krim. Pada hari ke 6 dilakukan pengambilan sampel jaringan dan dianalisis ekspresi IL-1 α dan IL-6 menggunakan metode IHC.

Hasil: Ekspresi IL-1 α pada kelompok perlakuan mengalami trend penurunan, pada kelompok EKBN 2% ekspresi IL-1 α (3,56 \pm 0,80) dan pada kelompok EKBN 4% ekspresi IL-1 α (3,04 \pm 0,83), kontrol negatif (2,53 \pm 0,62), dan kelompok kontrol negatif (4,19 \pm 1,17). Ekspresi IL-6 pada pemberian EKBN 4% mengalami penurunan menjadi (7,59 \pm 0,76), namun pada kelompok EKBN 2% mengalami peningkatan ekspresi IL-6 (8,95 \pm 0,90) jika di bandingkan dengan kelompok kontrol negatif (7,73 \pm 0,86).

Kesimpulan: Pemberian krim ekstrak kulit batang nangka tidak signifikan menurunkan ekspresi gen IL-1 α dan IL-6 pada jaringan kulit tikus yang diinduksi sinar UVB akut.

Kata Kunci: Krim ekstrak kulit batang nangka, IL-6, IL-1 α , UVB akut.

ABSTRACT

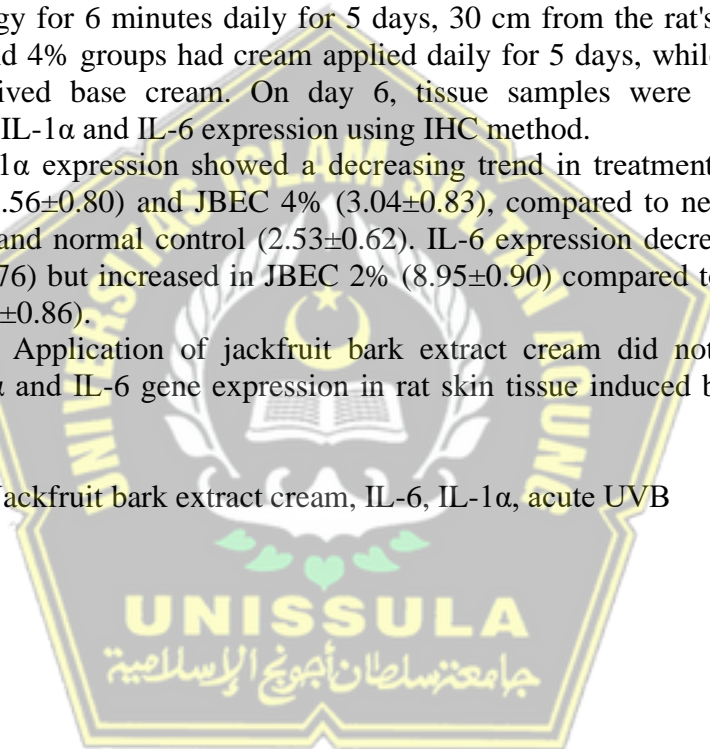
Background: UVB radiation can damage keratinocyte DNA, increase ROS, and trigger the release of proinflammatory cytokines IL-1 α and IL-6. Jackfruit bark extract contains flavonoids with anti-inflammatory properties. This study aims to analyze the effect of jackfruit bark extract cream on IL-1 α and IL-6 expression in Wistar rat skin exposed to acute UVB.

Methods: An experimental study with post-test control group design consisting of 4 groups: normal control, negative control, 2% jackfruit bark extract cream (JBEC 2%), and 4% jackfruit bark extract cream (JBEC 4%). Rats were exposed to UVB using a broadband UV-B light device at 1 Minimal Erythema Dose (MED) or 360 mJ/cm² energy for 6 minutes daily for 5 days, 30 cm from the rat's skin surface. JBEC 2% and 4% groups had cream applied daily for 5 days, while the negative control received base cream. On day 6, tissue samples were collected and analyzed for IL-1 α and IL-6 expression using IHC method.

Results: IL-1 α expression showed a decreasing trend in treatment groups, with JBEC 2% (3.56 \pm 0.80) and JBEC 4% (3.04 \pm 0.83), compared to negative control (4.19 \pm 1.17) and normal control (2.53 \pm 0.62). IL-6 expression decreased in JBEC 4% (7.59 \pm 0.76) but increased in JBEC 2% (8.95 \pm 0.90) compared to the negative control (7.73 \pm 0.86).

Conclusion: Application of jackfruit bark extract cream did not significantly reduce IL-1 α and IL-6 gene expression in rat skin tissue induced by acute UVB radiation.

Keywords: Jackfruit bark extract cream, IL-6, IL-1 α , acute UVB



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia terletak di garis khatulistiwa dan beriklim tropis yang memungkinkan untuk terpapar sinar matahari dengan intensitas yang tinggi. Paparan sinar matahari menyebabkan kerusakan pada kulit berupa *photodamage* hingga *photoaging*. Ultraviolet B (UVB) yang diserap oleh sel epidermis menyebabkan kerusakan DNA sehingga meningkatkan *reactive oxygen species* (ROS).¹ Peningkatan kadar ROS pada kulit dapat memicu peradangan dan mengaktivasi sitokin pro-inflamasi seperti *interleukin-1 α* (IL-1 α) dan *interleukin-6* (IL-6).² Tingginya peningkatan ekspresi IL-1 α dan IL-6 berdampak pada peningkatan produksi melanin dan penurunan kadar kolagen yang menyebabkan timbulnya *photodamage* dan *photoaging*.^{3,4} Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak kulit batang nangka memiliki aktivitas antiinflamasi dengan menurunkan kadar IL-1B dan TNF-a secara tergantung dosis.⁵ Oleh karena itu, peneliti ingin mengkaji lebih lanjut pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit batang nangka terhadap ekspresi IL-1 α dan IL-6 pada tikus jantan galur Wistar yang dipapar sinar UVB akut.

Kasus *photoaging* kulit pada tahun 2007 dilaporkan sebesar 80-90%, terutama pada populasi Eropa dan Amerika Utara, dan kasusnya semakin meningkat hingga saat ini.⁶ Indonesia adalah negara tropis dimana sepanjang tahun selalu disinari matahari. Paparan sinar UV dapat

menyebabkan penuaan kulit dan kerusakan sebesar 80% sedangkan efek sinar UV yang bersifat kronis dapat memicu terjadinya *photodamage*. Sekitar 98 – 99% respon eritem terjadi setelah paparan UVB dan mencapai puncaknya 12 – 24 jam setelah paparan.⁷ Penelitian Pamudji (2017) juga menyatakan bahwa pekerja lapangan dapat menerima 10% - 70% dari paparan sinar UVB setiap harinya sedangkan pekerja kantor hanya menerima 6%.⁸ Pencegahan paparan UVB saat ini banyak menggunakan bahan kosmetika kimia dan fisik untuk melindungi kulit dari dampak paparan UVB akut.

Kulit batang nangka mengandung berbagai senyawa metabolit seperti flavonoid, tanin, triterpenoid dan saponin yang berpotensi dalam berbagai hal, Senyawa flavonoid memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan tabir surya dengan cara menyerap sinar UVB dan mengikat ion logam sehingga dapat mencegah dampak negatif dari sinar UVB. Senyawa flavonoid yang terdapat pada kulit batang nangka adalah artocarpine.⁹ Ekstrak kulit Nangka *Artocarpus communis* dilaporkan dapat menurunkan kadar ROS dan peroksidasi lipid pada model tikus hairloss yang di induksi sinar UVB. Ekstrak etanol kulit nangka ini juga menurunkan kadar IL-1B dan TNF-a secara tergantung dosis.⁵ Bahan kimia yang terkandung di dalam kosmetik merupakan senyawa aromatik dengan gugus karbonil dan dapat mengiritasi terutama pada kulit sensitif. Penggunaan senyawa alami sangat diperlukan dalam mengatasi permasalahan paparan UVB akut dengan minimal efek samping.¹⁰⁻¹²

Eksplorasi potensi ekstrak kulit batang nangka terhadap photodamage dan photoaging akibat paparan sinar UVB hingga saat ini masih belum jelas. Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit batang nangka terhadap ekspresi IL-1 α dan IL-6 pada tikus galur wistar yang diinduksi sinar UVB akut.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh krim ekstrak kulit batang nangka (*Artocarpus heterophyllus*) terhadap ekspresi IL-1 α dan IL-6 pada tikus jantan galur Wistar yang dipapar sinar UVB akut?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian krim ekstrak kulit batang nangka (*Artocarpus Heterophyllus*) terhadap ekspresi IL-1 α dan IL-6 pada tikus jantan galur Wistar yang dipapar sinar UVB akut.

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1. Membuktikan pengaruh pemberian krim ekstrak kulit batang nangka (*Artocarpus heterophyllus*) secara topikal dosis 2% dan 4% terhadap ekspresi IL-1 α tikus jantan galur wistar yang dipapar UVB akut dibandingkan dengan kontrol.

1.3.2.2. Membuktikan pengaruh pemberian krim ekstrak kulit batang nangka (*Artocarpus heterophyllus*) secara topikal dosis 2% dan 4% terhadap ekspresi IL-6 tikus jantan galur wistar yang dipapar UVB akut dibandingkan dengan kontrol.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian krim ekstrak kulit batang nangka (*Artocarpus heterophyllus*) terhadap ekspresi IL-1 α dan IL-6 pada tikus jantan galur wistar yang dipapar UVB akut.

1.4.2. Manfaat Praktis

Manfaat secara praktis dari penelitian ini antara lain adalah:

1.4.2.1. Memberikan sumber informasi pada masyarakat tentang pengaruh krim ekstrak kulit batang nangka (*Artocarpus Heterophyllus*) terhadap ekspresi IL-1 α dan IL-6 sel pada tikus yang dipapar UVB akut.

1.4.2.2. Hasil penelitian lebih lanjut diharapkan krim ekstrak kulit batang nangka (*Artocarpus Heterophyllus*) dapat diaplikasikan pada kulit sebagai proteksi akibat paparan UVB akut.

1.5. Originalitas Penelitian

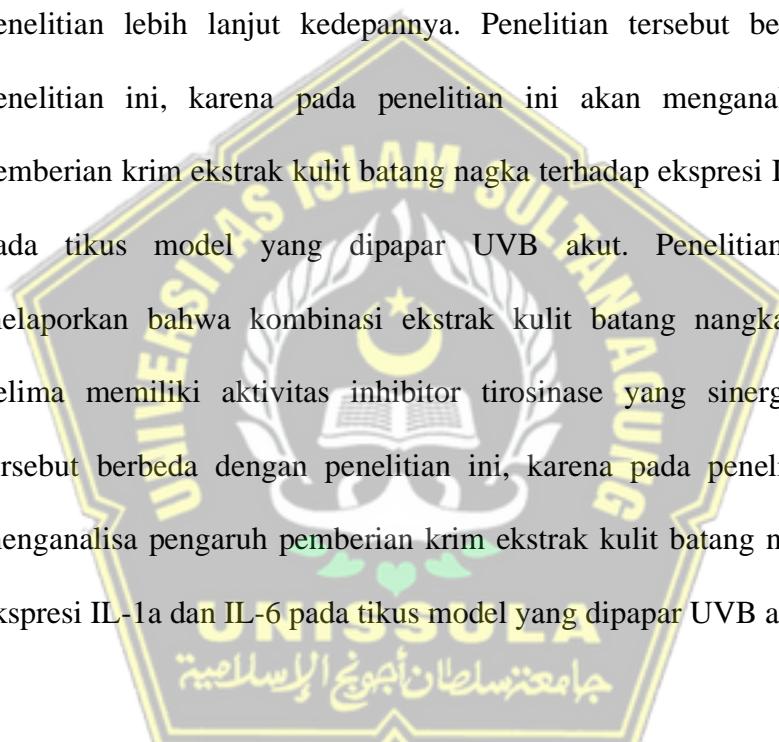
Tabel 1.1. Originalitas Penelitian

No	Peneliti, tahun	Judul	Metode	Hasil
1.	Tara Inastu Kandarpa, dkk,2021	Uji Efektivitas Epikarpium Buah Nangka (<i>Artocarpus Heterophyllus</i> lamar ck) sebagai sediaan krim tabir surya UV-B	<i>In vivo</i>	Ekstrak epikarpium buah <i>A. heterophyllus</i> memiliki aktivitas sebagai tabir surya dengan nilai SPF tertinggi pada konsentrasi 100% sebesar 23,96.
2.	Siti Umrah Noor, Dadan Teja Permana,2016	Formulasi ekstrak kulit batang nangka (<i>artocarpus heterophyllus</i> lamk.) didalam sabun emulsi minyak kedelai berscrub polietilen	<i>In vivo</i>	Formula terbaik adalah yang memiliki konsentrasi acrylates crosspolymer sebesar 3%.
3.	Ninin Kartika Juwita, Joshita Djajadisastra, Azizahwati, 2011	Uji Penghambatan Tirosinase Dan Stabilitas Fisik Sediaan Krim Pemutih Yang Mengandung Ekstrak Kulit Batang Nangka (<i>Artocarpus Heterophyllus</i>)	<i>In vitro</i>	Krim ekstrak kulit batang nangka 1,5% dan 2% dapat menurunkan aktivitas tirosinase dari krim yang mengandung ekstrak kulit batang nangka berturut-turut yaitu 10,64 % dan 11,34 %.
4.	Muh Nur Amir,dkk,2023	Studi <i>In vivo</i> Ekstrak Etanol Kulit Buah Nangka (<i>Artocarpus heterophyllus</i> L.) Sebagai Kandidat Obat Analgetik Terhadap Model Hewan Uji Mencit (<i>Mus musculus</i>)	<i>In vivo</i>	Ekstrak etanol kulit buah Nangka pada rentang dosis 300 mg/kg hingga 500 mg/kg memiliki aktivitas sebagai obat analgetik walaupun masih membutuhkan penelitian lebih lanjut kedepannya.

No	Peneliti, tahun	Judul	Metode	Hasil
5.	Stella Giovanni,dkk, 2023	Pengaruh ekstrak kombinasi dan mikroemulsifikasi terhadap aktivitas hambatan tirosinase dan antioksidan dari kulit batang nangka (<i>artocarpus heterophyllus</i> l.) dan kulit buah delima (<i>Punica granatum</i> L.)	<i>In vivo</i>	inhibitor tirosinase dari ekstrak kombinasi menunjukkan efek sinergis.

Penelitian terdahulu melaporkan bahwa Ekstrak epikarpium buah *A. heterophyllus* memiliki aktivitas sebagai tabir surya dengan nilai SPF tertinggi pada konsentrasi 100% sebesar 23,96. Penelitian tersebut berbeda dengan penelitian ini, karena pada penelitian ini akan menganalisa pengaruh pemberian krim ekstrak kulit batang nangka terhadap ekspresi IL-1a dan IL-6 pada tikus model yang dipapar UVB akut. Penelitian terdahulu juga melaporkan bahwa formula terbaik ekstrak kulit batang nangka adalah yang memiliki konsentrasi *acrylates crosspolymer* sebesar 3%. Penelitian tersebut berbeda dengan penelitian ini, karena pada penelitian ini akan menganalisa pengaruh pemberian krim ekstrak kulit batang nangka terhadap ekspresi IL-1a dan IL-6 pada tikus model yang dipapar UVB akut. Penelitian sebelumnya menemukan bahwa krim ekstrak etanol kulit batang pohon nangka 4% dapat menghambat stres oksidatif sehingga terjadi penurunan ekspresi melanin sebesar 18,13% pada epidermis kulit marmut melalui peningkatan kadar SOD-1 sebesar 2,41 mikro gram/mg, penurunan ekspresi 8OHdG sebesar 22,78%, ekspresi MCIR sebesar 27,33% dan kadar cAMP sebesar 0,37 mikro gram/mg dibandingkan dengan kelompok

kontrol. Penelitian tersebut berbeda dengan penelitian ini, karena pada penelitian ini akan menganalisa pengaruh pemberian krim ekstrak kulit batang nangka terhadap ekspresi IL-1a dan IL-6 pada tikus model yang dipapar UVB akut. Penelitian terdahulu melaporkan bahwa ekstrak etanol kulit buah Nangka pada rentang dosis 300 mg/kg hingga 500 mg/kg memiliki aktivitas sebagai obat analgetik walaupun masih membutuhkan penelitian lebih lanjut kedepannya. Penelitian tersebut berbeda dengan penelitian ini, karena pada penelitian ini akan menganalisa pengaruh pemberian krim ekstrak kulit batang nangka terhadap ekspresi IL-1a dan IL-6 pada tikus model yang dipapar UVB akut. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa kombinasi ekstrak kulit batang nangka dan ekstrak delima memiliki aktivitas inhibitor tirosinase yang sinergis, Penelitian tersebut berbeda dengan penelitian ini, karena pada penelitian ini akan menganalisa pengaruh pemberian krim ekstrak kulit batang nangka terhadap ekspresi IL-1a dan IL-6 pada tikus model yang dipapar UVB akut.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ekspresi IL-1 α

IL-1 α adalah salah satu sitokin pada kulit yang akan muncul saat terjadinya paparan sinar UVB. Paparan UVB diserap sebagian besar oleh keratinosit epidermis yang akan menyebabkan kerusakan pada epidermis. Mekanisme molekular yang mendasari penuaan kulit adalah radiasi sinar UV. Pada saat pajanan, sinar UV berinteraksi dengan kromofor yang sesuai; dapat berupa agen eksogen atau endogen seperti porfirin, flavin, basa DNA, asam amino, dan turunannya seperti asam urokanat. Hasil interaksi berupa kerusakan kromofor secara langsung atau sebagai photosensitizer pembentukan reactive oxygen species (ROS). Peningkatan konsentrasi ROS akan menginisiasi jalur sinyal transduksi melalui aktivasi reseptor permukaan sel.¹³

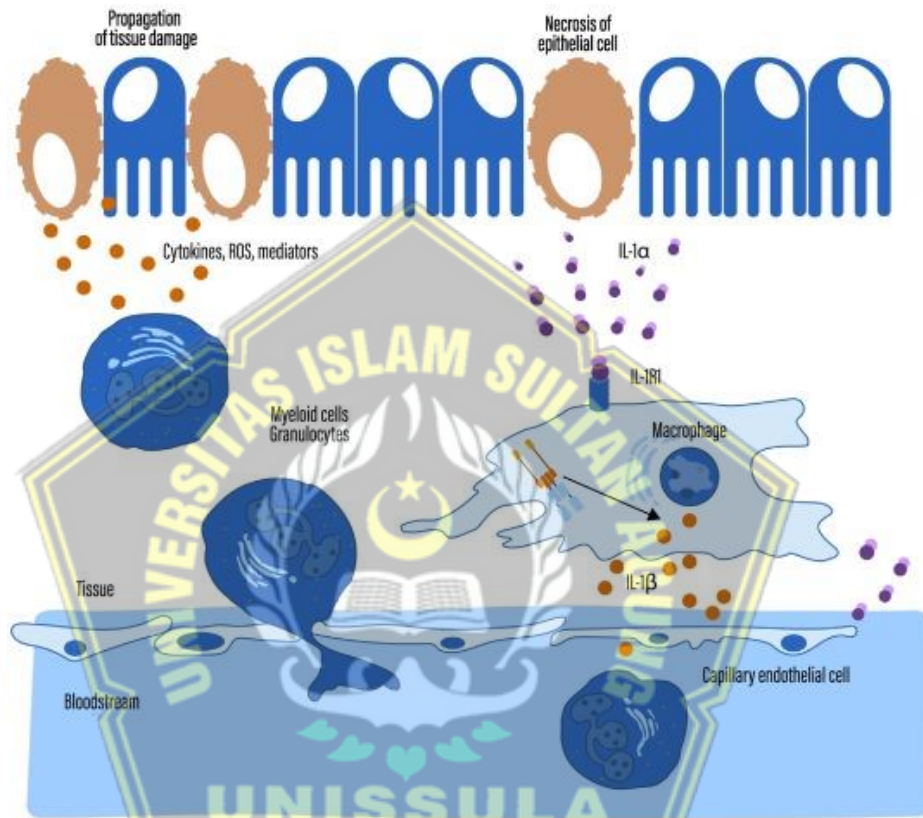
Nilai normal IL-1 α pada kondisi non-inflamasi bervariasi tergantung pada faktor-faktor seperti usia, jenis kelamin, dan kondisi kesehatan subjek. Meskipun demikian, dalam keadaan non-inflamasi, IL-1 α biasanya memiliki kadar basal yang rendah dalam cairan tubuh atau serum darah. Namun, nilainya mungkin dapat bervariasi antara individu. IL-1 α memainkan peran penting dalam respons inflamasi dengan menginduksi produksi sitokin proinflamasi lainnya dan meningkatkan peradangan. Ini bertindak sebagai sinyal alarm jika terjadi kerusakan jaringan atau infeksi, memicu pelepasan mediator inflamasi lainnya dan meningkatkan respons imun. IL-1 α terlibat

dalam berbagai proses seperti induksi demam, aktivasi limfosit, proliferasi sel sumsum tulang, dan degenerasi sendi. Selain itu, IL-1 α dapat menginduksi ekspresi COX-2, berkontribusi terhadap reaksi hipersensitivitas dan proses inflamasi pada sistem saraf pusat. Secara keseluruhan, IL-1 α merupakan pemain kunci dalam memulai dan mengatur respon inflamasi tubuh terhadap berbagai rangsangan.¹³

Faktor-faktor yang mempengaruhi produksi IL-1 α meliputi berbagai rangsangan dan kondisi yang dapat memicu ekspresinya. Beberapa faktor yang mempengaruhi produksi IL-1 α adalah:

1. Stimulus Peradangan: Produksi IL-1 α dapat dipicu oleh rangsangan peradangan seperti kerusakan jaringan, infeksi, atau adanya patogen seperti bakteri atau jamur.
2. Aktivasi Seluler: Faktor-faktor seperti aktivasi limfosit dan aktivasi makrofag dapat merangsang produksi IL-1 α .
3. Jaringan Sitokin: IL-1 α dapat dipengaruhi oleh sitokin lain di dalam tubuh, menciptakan jaringan interaksi yang mengatur produksinya.
4. Imunomodulasi: Respons sistem imun terhadap berbagai tantangan dapat berdampak pada produksi IL-1 α , karena IL-1 α terlibat dalam regulasi dan respons imun.
5. Mediator dan Faktor Endogen: Berbagai mediator di dalam tubuh, seperti prostaglandin, leukotrien, dan sitokin lain seperti IL-6 dan TNF- α , juga dapat mempengaruhi produksi IL-1 α .¹³

Faktor-faktor ini secara kolektif berkontribusi terhadap regulasi produksi IL-1 α sebagai respons terhadap kondisi fisiologis dan patologis yang berbeda.



Gambar 2.1. Lingkaran inflamasi yang digerakkan oleh IL-1. Kerusakan jaringan memicu pelepasan IL-1 α intraseluler dari sel-sel yang mati. Hal ini menghasilkan lingkungan yang mengandung IL-1 α , yang dirasakan dengan menginfiltrasi sel myeloid (yaitu monosit, makrofag) yang mengekspresikan IL-1RI. Sel-sel ini pada gilirannya mengaktifkan produksi IL-1 β yang bergantung pada inflamasi, yang memulai kaskade yang mengarah pada perekrutan sel-sel myeloid inflamasi (yaitu granulosit) ke lokasi kerusakan jaringan. Masuknya sel-sel inflamasi yang memproduksi sitokin, spesies oksigen reaktif, dan mediator efektor menyebabkan kerusakan jaringan.¹³

2.2. Interleukin-6

Paparan keratinosit *in vitro* terhadap UVB menginduksi sintesis banyak sitokin, termasuk tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 α

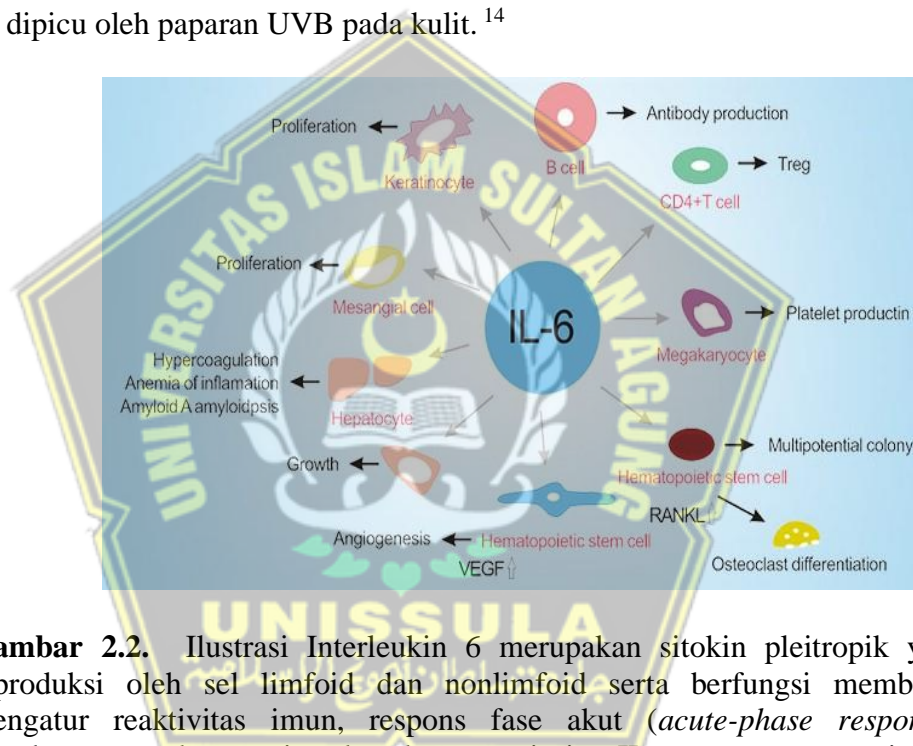
(IL-1 α), IL-6, IL-8 dan IL-10. Selain iradiasi UVB, beberapa faktor pertumbuhan dan sitokin, termasuk IL-1 α , IL-1 β dan interferon juga menginduksi ekspresi TNF- α pada keratinosit epidermal. Sitokin yang diinduksi oleh UVB ini bekerja secara kaskade untuk menginduksi peradangan, dengan pelepasan awal oleh keratinosit atau sel inflamasi pada kulit, dan selanjutnya bersinergi dengan keratinosit yang terkena radiasi UV untuk lebih meningkatkan produksi sitokinya.¹⁴

Faktor-faktor yang memengaruhi produksi IL-6 meliputi:

1. Usia: Kadar IL-6 dalam serum cenderung meningkat seiring bertambahnya usia, di mana pada usia yang lebih tua, terjadi peningkatan produksi IL-6 terkait dengan peningkatan jumlah radikal bebas oksigen.
2. Jenis Kelamin: Terdapat perbedaan kadar IL-6 antara laki-laki dan perempuan, dengan peningkatan kadar IL-6 yang terkait dengan berbagai kondisi seperti penyakit jantung koroner dan proses inflamasi.
3. Faktor Metabolisme dan Koagulasi: IL-6 memiliki efek pada trombosit, endotelium, faktor metabolisme, dan koagulasi, serta berperan dalam proses ruptur atau erosi plak aterosklerotik.

IL-6 memainkan peran penting dalam respons inflamasi yang disebabkan oleh induksi UVB. Studi menunjukkan bahwa IL-6 berperan dalam proses inflamasi akut dan memiliki efek pro-inflamasi yang signifikan. Peningkatan kadar IL-6 berkorelasi dengan aktivitas dan progresivitas penyakit, seperti pada kasus Reumatoid Arthritis (RA).

Selain itu, IL-6 juga terlibat dalam proses ruptur atau erosi plak aterosklerotik, di mana peningkatan kadar IL-6 serum terjadi selama peristiwa ini. Dalam konteks induksi UVB, IL-6 dapat mempengaruhi respon inflamasi kulit dan berkontribusi pada kerusakan jaringan serta peningkatan produksi leukosit. Oleh karena itu, IL-6 memiliki peran yang signifikan dalam merangsang respons inflamasi akut dan kronis yang dipicu oleh paparan UVB pada kulit.¹⁴



Gambar 2.2. Ilustrasi Interleukin 6 merupakan sitokin pleiotropik yang diproduksi oleh sel limfoid dan nonlimfoid serta berfungsi membantu mengatur reaktivitas imun, respons fase akut (*acute-phase response*), peradangan, onkogenesis, dan hematopoiesis. IL-6 merangsang sintesis hormon adrenokortikotropik di kelenjar pituitari serta menginduksi sintesis faktor pertumbuhan saraf. IL-6 juga dapat mengatur pertumbuhan dan perkembangan sel hematopoietik dan sel induk embrionik.¹⁴

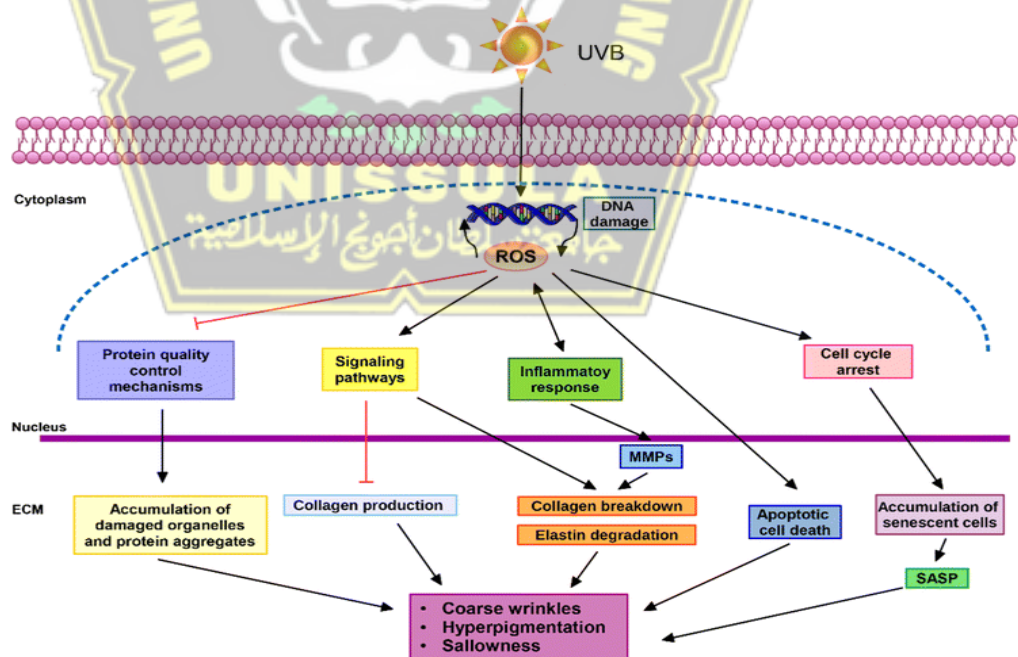
2.3. Photodamage

Kulit sebagai lapisan terluar tubuh yang mendapatkan paparan sinar UVB. Paparan UVB yang terus menerus akan menyebabkan timbulnya peradangan pada kulit yang apabila dibiarkan akan mengakibatkan terjadinya photoaging. Inflamasi atau radang dapat dengan mudah kita lihat

pada kulit. Peradangan yaitu suatu respon pertahanan tubuh yang ditujukan untuk mengeliminasi penyebab terjadinya kerusakan jaringan yang juga menyebabkan nekrosis pada sel dan jaringan. Adanya inflamasi mengindikasikan bahwa tubuh mengalami kerusakan yang diakibatkan oleh faktor penyebab peradangan. Faktor penyebab peradangan diantaranya adalah radiasi ultraviolet, inframerah, dan karsinogen lingkungan seperti polusi udara.

Pada saat pajanan, sinar UV berinteraksi dengan kromofor yang sesuai; dapat berupa agen eksogen atau endogen seperti porfirin, flavin, basa DNA, asam amino, dan turunannya seperti asam urokanat. Sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200-400 nm sedangkan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400-800 nm. Ketika suatu atom atau molekul menyerap cahaya maka energi tersebut akan menyebabkan tereksitasinya elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Tipe eksitasi tergantung pada panjang gelombang cahaya yang diserap. Sinar ultraviolet dan sinar tampak akan menyebabkan elektron tereksitasi ke orbital yang lebih tinggi. Sistem yang bertanggung jawab terhadap absorpsi cahaya disebut dengan kromofor. Hasil interaksi berupa kerusakan kromofor secara langsung atau sebagai photosensitizer pembentukan reactive oxygen species (ROS). Stres oksidatif adalah ketidakseimbangan antara ROS yang terbentuk dengan mekanisme pertahanan antioksidan. ROS merupakan senyawa oksigen reaktif dan produk sekunder metabolisme aerobik. Ketidakseimbangan ROS disebabkan oleh produksi ROS yang meningkat

dan berkurangnya produksi antioksidan atau keduanya. Stres oksidatif menimbulkan kerusakan oksidatif di berbagai komponen seluler, mengganggu proses komunikasi antar sel, merangsang apoptosis, dan terlibat pada berbagai penyakit yang berhubungan dengan penuaan. Peningkatan konsentrasi ROS akan menginisiasi jalur sinyal transduksi melalui aktivasi reseptor permukaan sel termasuk reseptor untuk faktor pertumbuhan epidermal (EGF), interleukin-1 (IL-1), IL-6, insulin, faktor pertumbuhan keratinosit (KGF), dan faktor tumor nekrosis- α (TNF- α). Aktivasi reseptor permukaan sel dapat menstimulasi kinase intraselular (p38, c-jun) yang meningkatkan regulasi serta aktivasi faktor transkripsi nuklir dan AP-1. Aktivasi AP-1 menghambat efek transformasi faktor pertumbuhan- β (TGF- β) yang menghasilkan gen kolagen.



Gambar 2.3. Ilustrasi *Photodamage* ³

2.4. Pohon Nangka

Dua species dalam genus Artocarpus yaitu sukun (*A. altilis*) dan nangka (*A. heterophyllus*) merupakan dua species yang banyak dibudidayakan.¹⁵ Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) merupakan tanaman genus *Artocarpus* yang memiliki banyak variasi kandungan polifenol. Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) adalah pohon yang bermanfaat dalam genus *Artocarpus* dan paling sering ditemukan di pekarangan tropis.¹⁶ Tumbuhan ini termasuk dalam famili Moraceae dan ordo Morales. Moraceae diperkirakan memiliki sekitar 37- 40 genus dan sekitar 1.000 -1.100 spesies yang sebagian besar terdistribusi di daerah tropis dan subtropis. Genus *Artocarpus* memiliki pusat keanekaragaman di Asia Tenggara. Kalimantan adalah pusat dalam diversifikasi genus *Artocarpus* dan mungkin berfungsi sebagai pusatnya keanekaragamannya dan evolusinya. *Artocarpus* berasal dari bahasa Yunani yaitu *artos* = roti dan *karpos* = buah.

Tumbuhan ini berukuran sedang yang biasanya mencapai ketinggian 8-25meter yang mudah dikenali dengan melihat buahnya. Daun berbentuk bulat telur dan panjang, tepinya rata, tumbuh secara berselang-seling, dan bertangkai pendek, permukaan atas daun berwarna hijau tua mengkilap, kaku, dan permukaan bawah daun berwarna hijau muda. Bunga: Perbungaan muncul secara soliter dari batang atau cabang, atau dari cabang lateral pendek. Perbungaan jantan dengan tangkai sepanjang 1 – 5.5 cm dan rangkaian perbungaan berbentuk silindris atau mendekati jorong, panjang 2.5 – 7 cm. Perbungaan betina dengan tangkai sepanjang 3 – 10 cm dan

rangkaian perbungaan jorong hingga silindris. Buah dan Biji: Perbuahan 30 – 100 cm panjangnya dan lebar 25 – 50 cm. Bentuk bervariasi dari jorong, lonjong atau seperti pir. Ujung perhiasan bunga menyerupai duri, berbentuk seperti piramida atau kerucut. Buah sejati membungkus biji, seperti selaput, berbentuk jorong hingga sedikit membulat, panjang lebih kurang 3 cm (Silalahi dan Mustaqim 2020).



Gambar 2.4. Kulit batang Nangka dan Nangka (*Artocarpus heterophyllus Lamk*)

2.4.1. Manfaat Pohon Nangka

1. Antiinflamasi

Studi kultur sel menunjukkan bahwa flavonoid nangka efektif dalam menghambat pelepasan mediator inflamasi dari sel mast, neutrofil dan makrofag. Fitokimia cycloheterohyllin, artonin B, dan artocarpanone menghambat pembentukan anion superoksida pada neutrofil tikus yang distimulasi *Nformyl-methionyl-leucyl-phenylalanine* (fMLP). *Dihydroisocycloartomunin* menghambat pelepasan

βglucuronidase dan histamin dari sel mast peritoneal tikus yang distimulasi dengan P- methoxy-N methylphenethylamine, sedangkan artocarpanone menghambat fMLP yang merangsang pelepasan lisozim dari neutrofil tikus. Artocarpanone juga menunjukkan efek penghambatan yang signifikan pada produksi nitric oxide (NO) dan ekspresi protein inducible nitric oxide synthase (iNOS) yang diinduksi lipopolisakarida dalam sel RAW 264. Studi terperinci dengan artocarpesin telah menunjukkan bahwa itu juga efektif dalam menghambat produksi PGE₂, spesies oksigen reaktif dan untuk mengurangi tingkat ekspresi protein COX-2 dan iNOS dalam sel RAW 264.7 yang distimulasi lipopolisakarida (LPS).

2. Antibakteri

Artocarpus heterophyllus menghasilkan senyawa cycloartocarpin, artocarpin, artocarpanone, dan cyanomaclurin yang memiliki aktivitas sebagai anti bakteri. Artocarpin menunjukkan aktivitas antibakteri terkuat terhadap bakteri Gram-positif *S. mutans*, *S. pyogenes*, *B. subtilis*, *Staphylococcus aureus*, dan *S. epidermidis* dengan minimal inhibitory concentration (MIC) dari 4,4; 4,4; 17,8; 8,9 dan 8,9 mM secara berurutan, dan minimum bactericidal concentration (MBC) masing-masing sebesar 8,9; 8,9; 17,8; 8,9 dan 8,9 μM, sementara artocarpanone menunjukkan aktivitas terkuat melawan

Escherichia coli dengan MIC dan MBC masing-masing sebesar 12,9 dan 25,8 μM . Artocarpin menunjukkan aktivitas penghambatan *Pseudomonas aeruginosa* dengan MIC 286,4 μM .¹⁷

3. Antioksidan

Bagian daun nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) dapat digunakan sebagai antioksidan alami karena mengandung metabolit sekunder. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun nangka terdapat beberapa senyawa yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, dan tanin. Tujuh ekstrak etil asetat daun nangka tua mengandung senyawa saponin dan steroid yang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 778,76 ppm terhadap radikal bebas. Isolasi ekstrak etanol daun nangka diperoleh total senyawa flavonoid sebesar 7,55 mg/g. Pada penelitian lain dari hasil isolasi ekstrak n-butanol daun nangka diperoleh senyawa flavonoid yaitu isokuersti.

4. Antidiabetes

Senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol kulit batang AH menunjukkan hambatan non- kompetitif untuk α -amilase dan α -glukosidase (Ajiboye *et al* 2015), sedangkan ekstrak air daun bekerja sebagai inhibitor kompetitif (Kotowaroo *et al* 2006).

5. Antimelanogenesis

Ekstrak metanol kayu AH telah berhasil diisolasi senyawa flavon (artocarmins A – D), chalcone (artocarmitins A – C). Senyawa artocarmins A – D, morachalcone menunjukkan aktivitas penghambatan tirosinase yang signifikan. Senyawa yang paling aktif, morachalcone A dengan nilai IC₅₀ sebesar 0,013 μ M adalah 3000 kali lebih aktif sebagai inhibitor tirosinase dibandingkan kontrol positif, asam kojic (IC₅₀, 44,6 μ M).

6. Antikanker

Dua chalcones baru, artocarpusins A dan B, satu flavon berupa artocarpusin C, satu turunan 2-arylbenzofuran baru, artocarstilene A, dan 15 flavonoid telah berhasil diisolasi dari ranting dari AH. Beberapa senyawa flavonoid yang diisolasi menunjukkan aktivitas sedang penghambatan pada proliferasi PC-3 dan garis sel H460.

2.4.2. Kandungan Pohon Nangka

Nangka (*Artocarpus heterophyllus Lamk*) memiliki kandungan flavone eral, morin, dihydromorin, cynomacurin, arcarpin, isoartocarpin, cyloartocarpin, artocarpesin, oxydihydroartocarpesin, artocarpetin, norartocarpetin, cycloartinone, dan artocarpanone. Flavonoid dikenal memiliki fungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, antifungal, antiviral, antikanker dan antibakteri. Flavonoid sebagai antibakteri bekerja dalam denaturasi protein sel

bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Kelembaban yang dihasilkan oleh inti kayu nangka (6,7%), glukosida (38,0%), lipid (0,7%), protein (1,7%), dan selulosa (59,0%).⁴⁰ Dibandingkan dengan jenis *Artocarpus* lainnya jenis *Artocarpus heterophyllus* memiliki aktivitas sebagai penghambat tirosinase yang paling besar dengan mengambil bagian kulit batangnya. Senyawa bioaktif yang didapat dari ekstrak kulit batang nangka berupa senyawa polifenol yang berfungsi sebagai agen depigmentasi.¹⁸

Biji buah nangka mengandung banyak mineral dan lemak.¹⁹ Biji buah nangka juga mengandung karbohidrat tinggi yang menjadi sumber energy untuk hewan jika dimasukkan ke dalam asupan diet hewan.⁴⁴ Pada kulit akar mengandung beberapa senyawa flavonoid diantaranya yaitu 5,2-dihidroksi, 7-4-dimetoksiflavanon, 2,4,6-trioksigenasiflavanon, heteroflavanon A dan B, sikloartenon, artonin X, β -sitosterol, artonin D, 5-hidroksi, 7,2,4,6-tetrametoksiflavanon, artonin C, asam ursolat, 8-(γ , γ -dimetilalil)-5,2,4-trihidroksi-7-metoksiflavanon, heteroflavanon C, sikloartokarpin A, 9-hidroksitridesil dokosanoat, heteropilol, betulin, dan asam betulinat.¹⁸

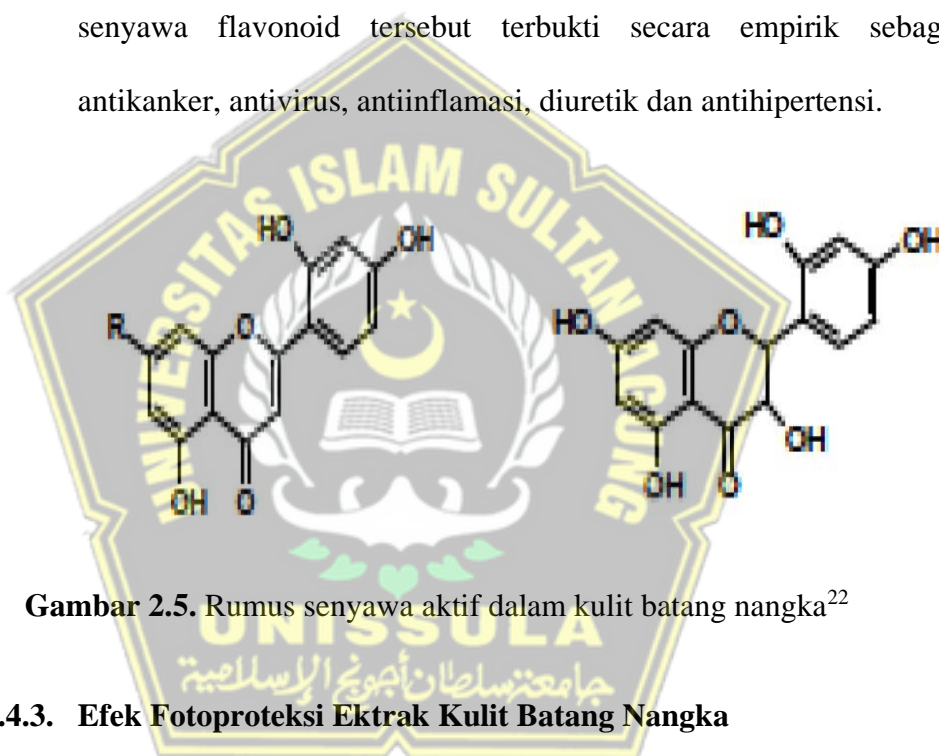
Berdasarkan hasil analisis *Gas Chromatography-Mass Spectrofotometry* GC-MS pada ekstrak kulit batang pohon nangka didapatkan senyawa: *Hexadecanoic acid ethyl ester* yang dikenal

juga dengan nama Ester Asam Palmitate, Asam Palmitat, yang mempunyai aktivitas sebagai Antioksidan *Hypocholesterolemic*, *Androgenic*, *Hemolytic 5-alpha reductase inhibitor*.

1. *Estra-1,3,5(10)-trien-17-beta-ol*, termasuk kedalam golongan steroid yang mempunyai efek Antioksidan, Antibakteri, dan Anti inflamasi yang mempunyai mekanisme kerja menurunkan jumlah melanin dengan cara mengoksidasi enzim tirosinase secara enzimatik menjadi produk yang sitotoksik pada melanosit sehingga terjadi degenerasi/ perusakan sel-sel pigmen sehingga dapat terjadi depigmentasi.
2. *Ethyl tridecanoate*, yang memiliki efek Anti Virus, Antioksidan, dan Anti inflamasi.
3. *Linoleic acid ethyl ester*, yang mempunyai efektivitas sebagai *Hypocholesterolemia*, *Anti Acne*, *Anti andronergic 5 alpha reduktase inhibitor*, degradasi enzim tirosinase dan menurunkan kadar tirosinase
4. *Ethyl Oleate*, atau nama lainnya *Oleic acid ethyl ester* mempunyai aktivitas sebagai *Food additive*, *Lubricasi*, *Solvent*.
5. *Gamma Sitosterol*, termasuk kedalam golongan steroid dan mempunyai aktivitas Anti mikroba, Anti kanker, dan Anti inflamasi serta mempunyai mekanisme kerja terhadap penurunan jumlah melanin dengan cara mengoksidasi enzim tirosinase secara enzimatik menjadi produk yang sitotoksik pada melanosit

sehingga terjadi degenerasi/ perusakan sel-sel pigmen sehingga dapat terjadi depigmentasi.²⁰

Kandungan kimia dalam kayu adalah morin, sianomaklurin (zat samak), flavon, dan tanin. Selain itu, di kulit kayunya juga terdapat senyawa flavonoid yang baru, yakni morusin, artonin E, artokarpin, sikloartobilosanton, dan artonol B.²¹ Bioaktivitas senyawa flavonoid tersebut terbukti secara empirik sebagai antikanker, antivirus, antiinflamasi, diuretik dan antihipertensi.



Gambar 2.5. Rumus senyawa aktif dalam kulit batang nangka²²

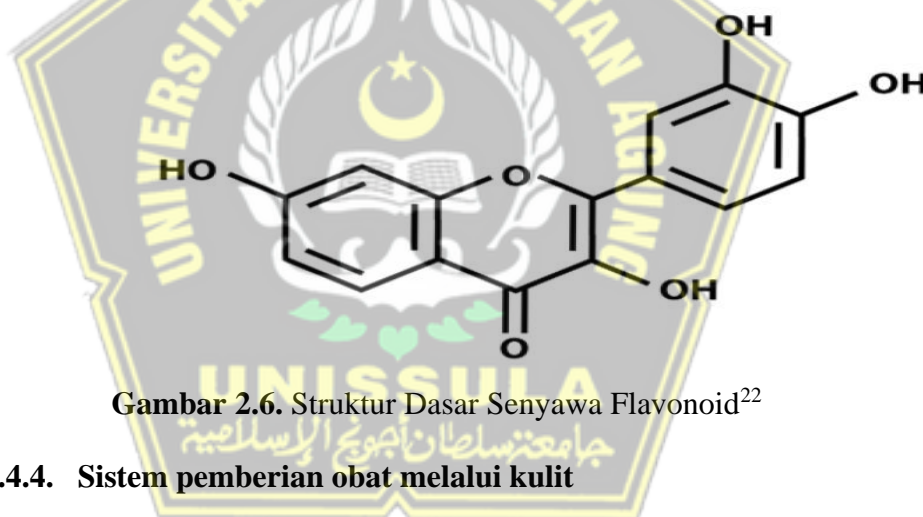
2.4.3. Efek Fotoproteksi Ekstrak Kulit Batang Nangka

1. Senyawa antioksidan yang terkandung akan menyumbang atom hidrogen atau elektron dan mengubah bentuk radikal bebas menjadi lebih stabil.⁹
2. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenolik yang banyak terdapat pada jaringan tanaman. Flavonoid dapat berperan sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidatif flavonoid

bersumber pada kemampuan mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam.²³

Flavonoid yang dihasilkan oleh *Artocarpus* ialah adanya substituent isoprenil pada C-3 dan pola 2',4'-dioksigenasi atau 2',4',5'-trioksigenasi pada cincin B dari kerangka dasar flavon. Ciri ini diwujudkan pada berbagai jenis senyawa, seperti flavon dengan prenil bebas pada c-3,piranoflavon,dihidrobensosanton, dan kuinonodihidrobensosanton. Senyawa-senyawa jenis ini belum pernah ditemukan pada tumbuhan lain.²⁴



Gambar 2.6. Struktur Dasar Senyawa Flavonoid²²

2.4.4. Sistem pemberian obat melalui kulit

Bentuk sediaan krim merupakan bentuk sediaan yang paling banyak digunakan dalam system pemberiaan obat maupun kosmetik pada kulit. Preparat yang digunakan pada kulit antara lain untuk efek fisik, yaitu sebagai pelindung kulit, pelican, pelembut, zat pengering,dan lain-lain atau untuk efek khususdari bahan obat yang ada.²⁵

Penetrasi obat setelah pemakaian topical pada kulit yang utuh sebagian besar melalui lapisan epidermis, dan sebagian kecil lainnya melalui dinding folikel rambut, kelenjar keringat atau kelenjar lemak atau antara sel-sel selaput tanduk.¹⁸ Absorpsi perkutan suatu obat pada umumnya disebabkan oleh penetrasi obat langsung melalui stratum korneum yang memiliki ketebalan 10–15 μm . Stratum korneum terdiri dari kurang lebih 40% protein (pada umumnya keratin) dan 40% air dan lemak terutama trigliserida, asam lemak bebas, kolesterol, dan fosfat lemak. Komponen lemak pada stratum korneum menyebabkan rendahnya penetrasi obat melalui stratum korneum. Suatu obat yang dapat menembus stratum korneum kemudian dapat terus melalui jaringan epidermis yang lebih dalam dan masuk ke dermis apabila obat mencapai pembuluh darah maka obat tersebut dapat diabsorpsi ke dalam sirkulasi sistemik.²⁶

Stratum korneum sebagai jaringan keratin berlaku sebagai membran semi permeabel, dan molekul obat mempenetrasi dengan cara difusi pasif. Jumlah obat yang dapat melalui berbagai lapisan kulit tergantung pada konsentrasi obat, sifat kelarutan dalam air, dan koefisien partisi obat tersebut dalam minyak atau air.²⁰ Difusi molekul obat pada lapisan-lapisan kulit dapat terjadi melalui penetrasi transelular (menyeberangi sel), penetrasi interselular (antarsel), dan penetrasi transapendageal yaitu melalui folikel rambut, kelenjar keringat, kelenjar lemak, dan pilo sebaceus.²²

2.4.5. Krim

Krim adalah sediaan setengah padat, berupa emulsi yang mengandung air tidak kurang dari 60% dan dimaksudkan untuk pemakaian luar. Krim ada dua tipe yakni krim tipe M/A dan tipe A/M. Krim yang dapat dicuci dengan air (M/A), ditujukan untuk penggunaan kosmetika dan estetika. Sifat umum sediaan krim ialah mampu melekat pada permukaan tempat pemakaian dalam waktu yang cukup lama sebelum sediaan ini dicuci atau dihilangkan. Krim dapat memberikan efek mengkilap, berminyak, melembapkan, dan mudah tersebar merata, mudah berpenetrasi pada kulit, mudah/sulit diusap, mudah/sulit dicuci air.

Krim hidrofilik mengandung sejumlah besar air dalam fase eksternalnya, atau yang disebut dengan minyak dalam air, contohnya *vanishing* krim.²⁷ *Vanishing* krim mengandung air dalam presentase besar dan asam *stearat*, sehingga saat digunakan air akan menguap meninggalkan sisa berupa selaput *stearat*. Krim hidrofobik mengandung sejumlah besar minyak dalam fase eksternalnya, atau yang disebut dengan air dalam minyak, contohnya adalah *cold* krim. *Cold* krim adalah emulsi air dalam minyak setengah padat, dibuat dengan lilin etil ester, lilin putih, minyak mineral, natrium borat dan air murni. *Cold* krim digunakan sebagai emolien dan bahan dasar salep.²⁸

Pemilihan bentuk sediaan krim ini memiliki kelebihan dibandingkan dengan bentuk sediaan lainnya seperti penyebarannya yang merata dan mudah untuk dibersihkan, khususnya krim emulsi minyak dalam air.²⁹ Pertimbangan yang terpenting bagi sediaan krim dalam bidang farmasi dan kosmetik adalah stabilitas dari produk jadi. Sediaan kosmetik yang stabil masih berada dalam batas yang dapat diterima selama periode penyimpanan dan penggunaan, yaitu sifat dan karakteristiknya sama dengan saat dibuat.³⁰

2.5. Hubungan Ekstrak Kulit Nangka dan Paparan sinar UVB akut

Radiasi UVB memiliki gelombang 290 nm sampai 320 nm³¹, paparan UVB lebih berbahaya dibandingkan pancaran spektrum sinar matahari lainnya seperti infra merah maupun cahaya tampak karena paparan radiasi. Iradiasi UVB secara terus menerus dalam kurun waktu tertentu dapat menyebabkan kulit terbakar, iritasi, photoaging, hiperpigmentasi, eritema, bahkan dapat menimbulkan kanker.¹ Iradiasi UVB akut pada epidermis menghasilkan pembentukan ROS.³² Peningkatan kadar ROS yang berlebihan menginduksi kelebihan ROS intraseluler seperti oksigen singlet (1O_2), anion superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan radikal hidroksil ($OH\cdot$) yang mengaktifkan faktor transkripsi *nuclear factor kappa beta* (NF- κ B).³³ Aktivasi NF- κ B menginduksi pelepasan sitokin proinflammasi seperti IL- 1α , TNF- α , IFN γ , dan IL-6. IL- 1α dan IL-6 memulai kaskade sinyal yang menginduksi ekspresi dan produksi mediator sekunder, yang meliputi sitokin dan kemokin, faktor pertumbuhan,

molekul adhesi, siklooksigenase tipe 2 (COX-2), nitric oxide synthase (iNOs) yang dapat diinduksi, dan faktor proinflamasi lainnya.

Disisi lain jalur p38 MAPK juga terlibat dalam stres oksidatif dan apoptosis yang diinduksi UVB, hal ini menginduksi interaksi yang kompleks antara p38 MAPK dan CK2, sehingga menstimulasi IKK kinase yang memfosforilasi I κ B, menyebabkan NF- κ B bertranslokasi ke dalam nucleus. Translokasi NF- κ B ke nucleus ini menginduksi aktivasi faktor transkripsi berbagai sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 β dan mengakibatkan sintesis melanin.³⁴ Beberapa penelitian ilmiah telah menunjukkan potensi senyawa antioksidan dan antiinflamasi dalam menghambat *photodamage* akibat iradiasi UVB³⁵. Selain itu, antioksidan juga dapat memberikan perlindungan terhadap kerusakan DNA oleh sinar UVB³⁵. Paparan sinar matahari yang berlebihan dapat merusak DNA kulit, yang dapat menyebabkan munculnya hiperpigmentasi. Dalam hal ini, potensi antioksidan ekstrak kulit nangka dapat memberikan perlindungan tambahan melalui penangkapan radikal bebas dan perlindungan DNA, sehingga mengurangi risiko *photodamage* yang disebabkan oleh sinar UVB. Meskipun terdapat beberapa bukti tentang potensi antiinflamasi ekstrak kulit nangka untuk mengurangi photoaging akibat UVB akut, masih diperlukan lebih banyak penelitian ilmiah yang mendalam. Hal ini termasuk penelitian terhadap mekanisme aksi yang lebih rinci, efektivitas, dan keamanan penggunaannya dalam produk perawatan kulit yang ditujukan untuk mengurangi mengontrol paparan sinar UVB akut.

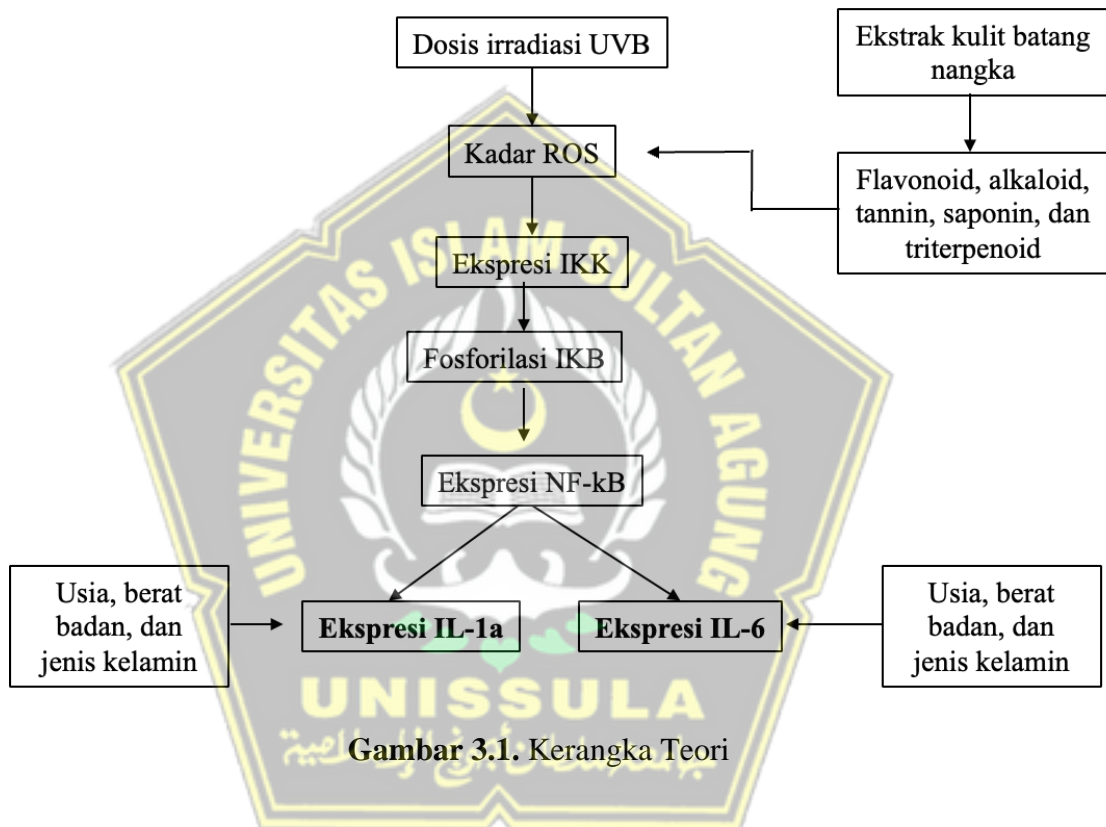
BAB III

KERANGKA TEORI, KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Teori

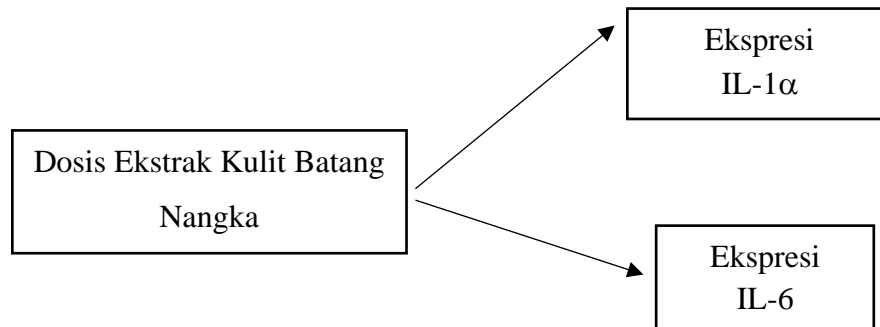
Sinar matahari yang berlebihan menimbulkan ROS yang berlebihan yang memulai kaskade transduksi sinyal.³⁶ Akumulasi ROS yang disebabkan karena radiasi UVB dapat mengganggu keseimbangan antara sistem oksidatif dan antioksidan dan menginduksi stres oksidatif yang parah akibat rusaknya protein secara langsung atau tidak langsung melalui *second messenger*. Di kulit, protein dari matriks ekstraseluler berubah dengan adanya 4-HNE atau MDA. Akumulasi MDA pada kulit yang terpapar sinar matahari lebih tinggi, dibandingkan dengan kulit yang terlindung dari sinar matahari. 4-HNE dan MDA diketahui menyebabkan kerusakan kolagen.³⁷ Paparan sinar UVB dapat menstimulasi IKK kinase yang memfosforilasi I κ B, menyebabkan NF- κ B bertranslokasi ke dalam nucleus. Translokasi NF- κ B ke nucleus ini menginduksi aktivasi faktor transkripsi berbagai sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 α dan IL-6 yang mengakibatkan *photodamage*.³⁴ ROS yang terbentuk akibat paparan UV-B dapat dihambat oleh flavonoid sehingga aktivasi NF- κ B dan produksi sitokin proinflamasi seperti IL-1 α dan IL-6 dapat dicegah. Senyawa flavonoid dalam batang nangka berperan penting dalam menghambat kondisi inflamasi pasca paparan UV B pada jaringan kulit. Senyawa metabolit sekunder yang mengandung flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, dan triterpenoid, dapat menginduksi ekspresi enzim antioksidan SOD, catalase, dan Gpx dengan mengaktifkan jalur Nrf2.

Enzim antioksidan ini akan menekan ekspresi ROS dan MDA. Disisi lain, senyawa metabolit sekunder tersebut memiliki aktivitas antiinflamasi dengan menghambat aktivasi faktor transkripsi NF-kB sehingga sitokin proinflamasi IL-1a dan IL-6 dapat ditekan.



Gambar 3.1. Kerangka Teori

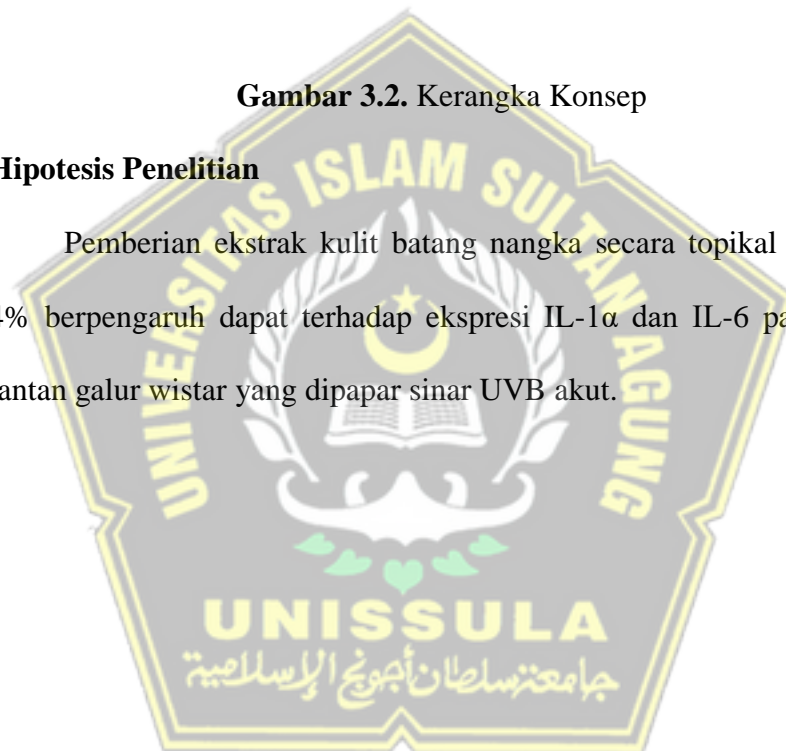
3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak kulit batang nangka secara topikal dosis 2% dan 4% berpengaruh dapat terhadap ekspresi IL-1 α dan IL-6 pada kulit tikus jantan galur wistar yang dipapar sinar UVB akut.

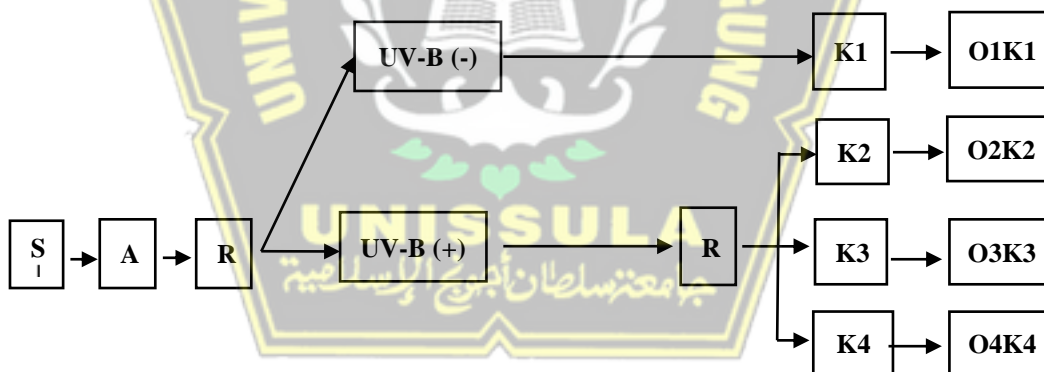


BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimen yang sebenarnya (*True Eksperimen*) dengan desain atau rancangan penelitian *post test only with control group design*. Menurut Sugiyono (2015:112) mengatakan desain dalam bentuk *posttest-only control design* terdapat dua kelompok yang masing-masing dipilih secara random. Kelompok pertama diberi perlakuan dan kelompok lain tidak. Kelompok yang diberi perlakuan disebut eksperimen dan kelompok yang tidak diberi perlakuan disebut kelompok kontrol.



Gambar 4.1. Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

P : Populasi

A : Aklimasi

R : Randomisasi menjadi 4 kelompok

S : Sampel

- K1 : Kelompok kontrol normal yang diberi pakan *standard* tanpa diberi paparan sinar UVB akut selama 5 hari, selanjutnya disebut kelompok kontrol positif.
- K2 : Kelompok kontrol normal yang diberi pakan *standard* dan diberi paparan sinar UVB akut dan dioleskan bahan dasar krim (plasebo) selama 5 hari, selanjutnya disebut kelompok kontrol negatif
- K3 : Kelompok perlakuan yang diberi ekstrak batang nangka 2%, dipapar sinar UVB selama 5 hari, selanjutnya disebut kelompok 3
- K4 : Kelompok perlakuan yang diberi ekstrak batang nangka 4%, dipapar sinar UVB selama 5 hari, selanjutnya disebut kelompok 4
- O1 : Observasi Kelompok 1
- O2 : Observasi Kelompok 2
- O3 : Observasi Kelompok 3
- O4 : Observasi Kelompok 4

4.2. Populasi dan Teknik Pengambilan Sampel

4.2.1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah tikus jantan galur wistar yang memenuhi kriteria inklusi di adaptasi, di Laboratorium IBL. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Tikus dipelihara dengan pakan pellet yang standar sebanyak 2 kali sehari dan air minum berupa aquades dengan suhu ruangan pemeliharaan berkisar 23-24 derajat celcius dengan ventilasi dan ruangan yang cukup. Tikus kemudian dilakukan adaptasi selama 1 minggu sebelum diberikan perlakuan.

4.2.2. Teknik Pengambilan Sampel

4.2.2.1. Kriteria Inklusi

- a. Tikus jantan galur wistar
- b. Tikus dalam keadaan aktif, sehat, tingkah laku dan aktifitas normal
- c. Umur 2,5-3 bulan
- d. Berat badan 200-250 gram

4.2.2.2. Kriteria Eksklusi

- a. Tikus mati
- b. Tikus menjadi sakit selama perlakuan

4.2.3. Jumlah Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah Tikus wistar jantan. Tikus wistar jantan yang memenuhi kriteria inklusi sebanyak 6 ekor untuk setiap kelompok penelitian, sehingga jumlah total 24 ekor. Menurut WHO besar sampel perkelompok minimal 5 ekor dengan cadangan 10% (1 ekor) untuk menghindari *loss of follow*³⁸. Sampel dirandomisasi menggunakan cara *simple random sampling*, dibagi menjadi 4 kelompok yaitu 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Jumlah keseluruhan sampel Tikus wistar jantan yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 24 ekor.

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

Keterangan:

n : Besar sampel setiap kelompok

t : Jumlah kelompok

Jadi, banyaknya sampel yang diperlukan:

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

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

$$(n-1)3 \geq 15$$

$$n-1 \geq 5$$

$$n \geq 5+1$$

$$n \geq 6$$

Berdasarkan rumus di atas ditetapkan jumlah sampel tikus per kelompok adalah 6 ekor dengan 4 kelompok perlakuan, maka jumlah sampel total adalah 24 ekor terdiri dari 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan.

4.3. Variabel dan Definisi Operasional

4.3.1. Variabel

- a. Variabel bebas : Krim ekstrak kulit pohon nangka
- b. Variabel terikat : Ekspresi IL-1 α dan IL-6
- c. Variabel prakondisi : Sinar UVB

4.3.2. Definisi Operasional

1. Dosis Krim Ekstrak Batang Nangka

Kulit batang nangka di dapatkan di daerah purwodadi, semarang, kemudian di proses Unissula.

Skala : Ratio

2. Ekspresi *IL-1 α*

Sampel jaringan kulit di area penyinaran diambil dan dibuat embedding dalam paraffin. Sampel paraffin blok dipotong dan dilakukan analisis ekspresi protein dengan menggunakan imunohistokimia (IHC). Sampel yang membentuk warna coklat dinyatakan positif terekspresi IL-1 α dan dihitung luas area positif (area antar sel yang berwarna coklat) dan dibandingkan dengan total luas area pada lapangan pandang, analisis dihitung dengan imageJ. Pengukuran dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UGM.
Skala: Ratio.

3. Ekspresi IL-6

Sampel jaringan kulit di area penyinaran diambil dan dibuat embedding dalam paraffin. Sampel paraffin blok dipotong dan dilakukan analisis ekspresi protein dengan menggunakan imunohistokimia (IHC). Sampel yang membentuk warna coklat dinyatakan positif terekspresi IL-6 dan di hitung jumlah positif

area yang berwarna coklat dan dibandingkan dengan total luas area pada lima lapang pandang, analisis dihitung dengan imageJ. Pengukuran dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UGM.

Skala: Ratio.

4. Sinar UVB

Sinar UVB adalah sinar yang berasal dari lampu UVB *Narrowband* TL-F72-100W/12 dengan besar dosis radiasi yang dapat diukur dengan UV meter. UV light (broadband dengan peak emission 302 nm) dengan minimal erythema dose (MED) 360 mJ/cm² yang dipapar sekitar 6 menit/hari selama 5 hari³⁹. Pengukuran dilakukan di Laboratorium IBL Fakultas Kedokteran Unissula.

Skala: Ratio.

4.4. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan untuk perlakuan seperti ekstrak kulit batang nangka, krim, ketamin, xylazine, etanol, akuades, pakan tikus, dan chloroform.

4.5. Peralatan Penelitian

Penelitian ini menggunakan beberapa peralatan untuk membuat hewan model antara lain berupa UV light (broadband dengan puncak emisi 302 nm) dengan energi 360 mJ/cm², pisau cukur, kandang paparan,

kandang pemeliharaan, tempat air minum tikus dan pemotong rambut. Alat yang digunakan untuk pengumpulan data adalah vacutainer, tabung hematokrit, pot 5 mL, 6 mm biopsy punch, sentrifus, mikropipet, 1000 uL mikropipet tip, dan vial tube 1,5 mL. Alat yang digunakan untuk analisis data antara lain microplate reader, mikroskop, *staining jar*, *coated desk glass*, *cover glass*, dan laptop.

4.6. Cara Penelitian

4.6.1. Perolehan *Ethical Clearence*

Ethical clearence penelitian diajukan di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

4.6.2. Persiapan Sebelum Perlakuan

- a. Adaptasikan 24 ekor tikus wistar dengan lingkungan selama 1 minggu
- b. Dilakukan pengambilan sampel secara acak pada ke 24 tikus wistar yang masuk kriteria inklusi
- c. Dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok Sehat, kontrol negative, kontrol positif, dan perlakuan
- d. Letakkan tikus di kandang kawat yang dilengkapi dengan makanan dan minuman secukupnya. Setiap kandang berisi 6 tikus. Suhu ruangan dipertahankan pada suhu 28-32°C
- e. Lakukan pencukuran punggung tikus sebesar 2x3 cm untuk area penyinaran UVB.

4.6.3. Pembuatan Krim Ekstrak Kulit Batang Nangka

a. Persiapan Simplisia

1. Kulit batang pohon nangka diambil kulit batang pohon nangka sebanyak 3 kg diambil bagian tengah pohon (1,5-2 meter dari tanah) dengan kedalaman 2 cm.
2. Dibersihkan dari kotoran dan jamur. Kemudian dikeringkan dengan diangin-anginkan.
3. Setelah itu ditumbuk hingga halus menjadi serbuk, didapatkan 400 gram serbuk kulit batang pohon nangka.
4. Kulit batang pohon nangka diekstrak dengan etanol 96% dan didapatkan hasil ekstraksi sebanyak 26 gram ekstrak kulit batang pohon nangka

b. Pembuatan Ekstraksi

1. Serbuk kulit pohon nangka ditimbang sebanyak 100 gram, kemudian diekstraksi dengan menggunakan etanol 96% (1:10) dan dimaserasi dengan *magnetic stirer* sampai ampas sampel tidak berwarna.
2. Setelah 24 jam, rendemen disaring dengan menggunakan corong gelas yang dilapisi kertas saring, sehingga diperoleh filtrat dan residu.
3. Residu dipisahkan dan filtrat diuapkan dengan *evaporator* suhu 40°C sampai diperoleh sampel pekat (ekstrak etanol).

4. Rendemen dihitung berdasarkan berat ekstrak dibandingkan dengan berat sampel yang diekstrak dikalikan 100%
5. Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

Berat ekstrak kental yang diperoleh

Berat serbuk simplisia mula-mula

6. Rendemen = x 100%
7. Berat serbuk simplisia mula-mula
8. Formula untuk pembuatan krim adalah bahan untuk standar pembuatan sediaan krim seperti di bawah ini :

R/ Asam stearat	15 g
Setil alkohol	4 g
Trietanolamin	1 g
Gliserin	8 g
Metil paraben	0,1 g
Propil paraben	0,05 g
Aquades	Ad 100 g
Ekst. kulit batang nangka	x %

Keterangan :

x % : Konsentrasi ekstrak kulit batang nangka

Tabel 4.1. Formula Pembuatan Krim Ekstra Kulit Batang Nangka

No	Komposisi	Jumlah (500 g)
1	Asam stearat	75
2	Setil alkohol	20
3	Trietanolamin	5

4	Gliserin	40
5	Metil paraben	0,5
6	Propil paraben	0,25
7	Aquades ad	500

Cara pembuatan basis krim:

1. Meleburkan fase minyak yaitu asam stearate, setil alcohol, dan propil paraben diatas penangas air.
2. Kemudian fase air yaitu trietanolamin, gliserin, metil paraben dan aquades dipanaskan diatas penangas air.
3. Dimasukkan fase minyak ke dalam mortir panas lalu ditambahkan fase air dan digerus hingga terbentuk basis krim.

4.6.4. Persiapan Uji Fitokimia

- a) Uji Flavonoid Uji flavonoid dilakukan dengan Sampel uji sebanyak 2 ml dengan menggunakan pelarut aquades dimasukan dalam tabung reaksi. Larutan ditambahkan dengan 0,1 mg serbuk magnesium dan 5 tetes HCl pekat.
- b) Uji Alkaloid Uji alkaloid dilakukan dengan menggunakan identifikasi kimiawi yang dilakukan secara makrokimia dengan melarutkan zat-zat yang ada di dalam bagian tumbuhan dengan reagen Mayers dan Dragendorff. Sampel uji sebanyak 2 ml dengan menggunakan pelarut aquades dimasukan dalam tabung reaksi kemudian teteskan reagen meyer pada tabung reaksi A dan reagen dragendorff pada tabung reaksi B.

- c) Uji Tanin Uji Tanin dilakukan dengan Sampel uji sebanyak 2 ml dengan menggunakan pelarut aquades dimasukan dalam tabung reaksi. Larutan ditambahkan dengan satu atau dua tetes larutan FeCl₃ 1%.
- d) Uji Saponin Uji saponin dilakukan dengan cara mengocok potongan tumbuhan dengan menggunakan pelarut aquades 3-5 menit timbul buih, dan buihnya tidak hilang 30 menit (6).
- e) Uji Steroid Uji Steroid dilakukan dengan Sampel uji sebanyak 2 ml dengan menggunakan pelarut aquades dimasukan dalam tabung reaksi. Larutan ditambahkan dengan 5 tetes asam asetat dan 5 tetes H₂SO₄.
- f) Uji Minyak Atsiri Uji minyak atsiri dilakukan dengan Sampel uji sebanyak 2 ml dengan menggunakan pelarut alkohol 96% dimasukan dalam tabung reaksi. Larutan ditambahkan dengan larutan Sudan III atau IV.

4.6.5. Penetapan Dosis

Dosis pemberian krim ekstrak kulit batang nangka secara topikal pada penelitian ini menggunakan konsentrasi 2 % dan 4 %. Penggunaan topikal krim ekstrak kulit batang nangka dilakukan 1 kali sehari selama 5 hari berturut-turut, sebanyak $\pm 0,6 \text{ mg/9 cm}^2$ di area punggung tikus yang terkena paparan UVB.

4.6.6. Perlakuan Hewan Coba

Perlakuan dibagi menjadi 4 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 6 sampel.

Kelompok I : Tikus sehat yang mendapatkan pakan standar (tidak diberikan paparan apapun)

Kelompok II : Kelompok kontrol negatif, yaitu tikus yang dipapar dosis UVB akut selama 6 menit, lalu dilanjutkan dengan pemberian basis krim secara topikal 1 kali. Perlakuan ini dilakukan berturut-turut selama 5 hari

Kelompok III : Kelompok perlakuan 1, tikus yang dipapar dosis UVB akut selama 6 menit, lalu dilanjutkan dengan pemberian krim ekstrak kulit batang nangka 2% secara topikal 1 kali. Perlakuan ini dilakukan berturut-turut selama 5 hari

Kelompok IV : Kelompok perlakuan 1, tikus yang dipapar dosis UVB akut selama 6 menit, lalu dilanjutkan dengan pemberian krim ekstrak kulit batang nangka 4% secara topikal 1 kali. Perlakuan ini dilakukan berturut-turut selama 5 hari

Paparan UVB akut diberikan ke kelompok kontrol negatif, kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2. Paparan akut

diberikan menggunakan lampu sinar UV-B light broadband dengan dosis 360 mJ/cm^2 selama 6 menit dengan jarak 30 cm dari permukaan kulit tikus, lalu dilanjutkan dengan pengolesan krim ekstrak kulit batang nangka dosis 2% dan 4% diaplikasikan 1 kali sehari, perlakuan ini dilakukan selama 5 hari berturut-turut. Hari ke 6 dilakukan euthanasia kemudian diambil jaringan kulit punggung tikus dengan ukuran 3x3 cm dan dimasukkan kedalam tabung larutan formalin 10% dan diberi label sesuai dengan kelompok dan urutannya, kemudian dibuat sediaan histologis untuk pemeriksaan.

4.6.7. Terminasi Tikus

Untuk mengambil sampel kulit pada tikus dilakukan biopsi. Sebelum dibiopsi, tikus di euthanasia dengan xylazine 20 mg/kgBB IM dan ketamin 60 mg/KgBB IM. Setelah tikus benar-benar mati, pengambilan sampel biopsy dapat dilakukan.

4.6.8. Sediaan Biopsi Kulit

Setelah tikus benar-benar mati, tandai daerah lesi kulit aktif dengan marker. Bersihkan daerah lesi dan kulit sekitar dengan larutan antiseptik, kemudian tutup dengan duk steril. Lakukan eksisi elips diameter 5 mm dan kedalaman hingga subkutan dan masukkan ke dalam larutan fiksasi buffer 10% selama 24 jam kemudian trimming jaringan yang akan diambil. Untuk pemeriksaan jumlah neutrofil dan fibroblas, rendam jaringan tersebut dengan alcohol

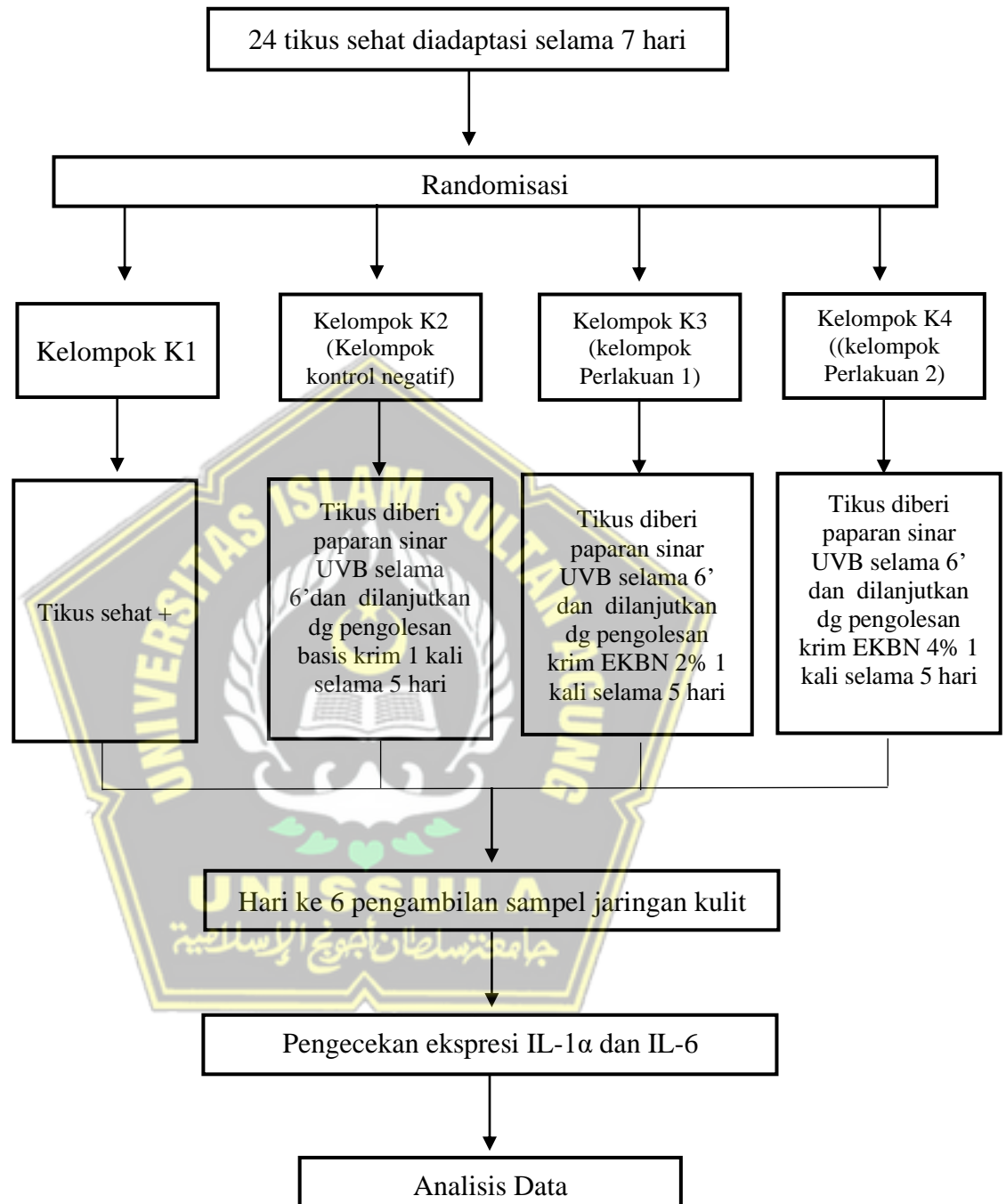
bertingkat secara berurutan rendam di kadar 50%, 70%, 90% dan 100% masing-masing 2 kali selama 2 jam. Kemudian masukkan ke clearing agent (xylene) selama 24 jam sampai transparan. Lakukan infiltrasi sebanyak 2 kali masing-masing 1 jam dengan paraffin murni (histoplast) cair kemudian jaringan ditanam dalam paraffin cair dan biarkan membentuk blok selama 1 hari agar mudah diiris dengan mikrotom. Pemotongan dengan mikrotom ketebalan 4 μM diambil irisan ke 5, 10, dan 15 lalu tempelkan pada objek glass dan inkubasi selama 2 jam pada suhu 60°C.

4.6.9. Analisis Kuantitatif Ekspresi IL-1 α dan IL-6 menggunakan IHC

1. Siapkan potongan jaringan kulit yang difiksasi menggunakan formalin dan kemudian dipecahkan menjadi potongan tipis sekitar 4-5 mikron menggunakan mikrotom.
2. Lakukan pemulihan antigen dengan memanaskan potongan jaringan dalam larutan buffer sitrat selama 30 menit pada suhu 95°C.
3. Cuci jaringan dengan PBS 1x selama 15 menit.
4. Ditetaskan prediluted blocking serum dan inkubasi selama 10 menit.
5. Inkubasikan potongan jaringan dengan antibodi primer spesifik terhadap IL-1a dan IL-6, diinkubasi selama semalam di suhu 4°C.

6. Keluarkan sampel jaringan dari kulkas 4⁰C dan dicuci dengan PBS 1x sebanyak 3 x masing-masing 5 menit.
7. Teteskan antibodi sekunder yang dilabel biotin (biotinylated universal secondary antibody), inkubasi selama 10 menit.
8. Cuci dengan PBS sebanyak 2 kali masing-masing selama 5 menit.
9. Tambahkan 100 μ L streptavidin (HRP), inkubasi selama 10 menit pada suhu ruang.
10. Cuci dengan PBS sebanyak 2 kali masing-masing selama 5 menit.
11. Tambah 100 μ L kromogen DAB dan diinkubasi selama 10 menit atau dihentikan setelah timbul warna coklat.
12. Cuci dengan akuades sebanyak 2 kali.
13. Selanjutnya, genangi jaringan dengan MayeHaematoxylin 100 μ L selama 5 menit, lalu cuci dengan akuades sampai bersih (sampai warna biru hilang).
14. Celupkan sampel jaringan dalam xylol.
15. Cuci dalam alkohol. Keringkan cover slip.
16. Lakukan mounting dengan mounting medium.
17. Tutup cover slip dengan cover slip kotak. Amati ekspresi protein dengan mikroskop cahaya.
18. Positif mengekspresikan IL-1a dan IL-6 ditandai dengan warna kecoklatan pada sel.

4.7. Alur Penelitian



Gambar 4.2. Alur Penelitian

4.8. Jadwal Pelaksanaan Penelitian

Penelitian sebagian besar dilakukan di Laboratorium IBL Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung, Semarang, Jawa Tengah pada bulan April sampai Mei 2024.

4.9. Analisis Data

Dalam melakukan analisis data kadar IL-1 α dan IL-6 pada serum tikus jantan galur wistar antar kelompok dilakukan langkah-langkah statistik sebagai berikut:

1. Menggunakan program SPSS
2. Uji *Shapiro-Wilk* untuk melihat normalitas distribusi data dan dilakukan uji *Levene's test* untuk melihat homogenitas variasi data.
3. Penelitian ini normal homogen ($p > 0,05$) dilakukan dengan uji *One-Way Anova*, kemudian dilanjutkan dengan *Post-Hoc test*. tidak memenuhi persyaratan normal homogen ($p < 0,05$) menggunakan uji non parametrik *Kruskal Wallis*, kemudian dilanjutkan dengan menggunakan *Mann Whitney*.

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan mengkaji pengaruh krim ekstrak kulit batang nangka terhadap ekspresi protein IL-1 α dan IL-6 pada kulit tikus yang terpapar sinar UVB akut. Penelitian eksperimen di laboratorium IBL FK Unissula dan laboratorium Patologi Anatomi FK UGM pada bulan Mei 2024 hingga Juni 2024 di Laboratorium IBL Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang kemudian dilanjutkan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Subjek penelitian tikus jantan galur wistar dengan berat 200 – 250 gram dan berumur 2 – 2,5 bulan yang diberi paparan UVB light 302 nm dengan intensitas energi 360 mJ/cm² selama 6 menit dan dilanjutkan dengan pemberian krim ekstrak kulit batang nangka dosis 2% dan 4% selama 5 hari berturut-turut. Penelitian ini menggunakan tikus jantan galur wistar yang merupakan salah satu hewan coba yang paling sering digunakan sebagai model dalam penelitian karena memiliki struktur kulit mirip kulit manusia.^{57,58} Penggunaan hewan model jantan bertujuan untuk mencegah faktor perancu hormonal yang dapat mempengaruhi pelepasan sitokin pro-inflammasi IL-1 α dan IL-6. Penelitian ini menggunakan sampel sebanyak 24 ekor tikus jantan galur wistar dan tidak ada *drop out* selama penelitian selama berlangsung. Penelitian terdiri dari 4 kelompok yang terdiri dari 1 kelompok sehat, 1 kelompok tikus kontrol negatif, 2 kelompok perlakuan. Kelompok tikus sehat merupakan tikus sehat tanpa perlakuan dan tanpa intervensi. Kelompok kontrol negatif mendapatkan krim basis tanpa ekstrak kulit batang nangka. Kelompok perlakuan

pertama (K1) mendapatkan krim ekstrak kulit batang nangka dosis 2% (10mg) dan kelompok perlakuan kedua (K2) mendapatkan krim ekstrak kulit batang nangka dosis 4% (10mg) selama 5 hari berturut-turut. Pemberian krim ekstrak kulit batang nangka dilakukan secara topikal di area kulit yang dipapar UVB secara merata.

5.1. Hasil Penelitian

5.1.1. Ekstraksi Kulit Batang Nangka dan Uji Kualitatif Skrining

Fitokimia

Ekstrak kulit batang nangka pada penelitian ini diperoleh melalui metode maserasi dengan pelarut etanol, menghasilkan rendemen sebesar 7,10%. Ekstrak tersebut memiliki karakteristik kental, beraroma batang, dan berwarna coklat. Selanjutnya, dilakukan analisis skrining fitokimia kualitatif pada ekstrak kental tersebut. Hasil skrining ekstrak kulit batang nangka positif mengandung senyawa flavonoid, yang ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning saat bereaksi dengan HCl dan Mg. Penelitian ini juga menentukan total flavonoid dan fenol dalam ekstrak menggunakan metode spektrofotometri. Pada konsentrasi 1000 ppm, ekstrak mengandung flavonoid sebesar 62,60 mg/mL, sementara total fenol dalam konsentrasi 500 ppm adalah 69,10 mg/mL. Hasil ini menunjukkan bahwa mayoritas senyawa dalam ekstrak kulit batang nangka adalah flavonoid.

Tabel 5.1. Uji skrining fitokimia ekstrak kulit batang nangka

Parameter Uji	Hasil Uji (Kualitatif)	Metode
Alkaloid	Negatif	Wagner
Saponin	Negatif	Forth
Tanin	Negatif	FeCl ₃ 1%
Flavonoid	Positif	Wilstater

5.1.2. Efek Pemberian Krim Ekstrak Kulit Batang Nangka Terhadap Ekspresi IL-1 α Pada Tikus Galur Wistar Yang Dipapar UVB Akut

Pada penelitian ini dilakukan analisis ekspresi protein IL-1 α pada kulit tikus dengan metode IHC pada hari ke-6 penelitian. Ekspresi IL-1 α dianalisis pada ke 6 hewan model tikus pada setiap kelompok dan dilakukan analisis statistika uji normalitas *saphiro wilk* dan uji homogenitas *levene test* (Tabel 5.2).

Tabel 5.2. Data hasil Penelitian Ekspresi IL-1 α dan Ekspresi IL-6

Variabel	Kelompok			P value
	Kontrol sehat=6 Mean \pm SD	Kontrol negatif n=6 Mean \pm SD	Krim Ekstrak Kulit Batang Nangka 2% n=6 Mean \pm SD	Krim Ekstrak Kulit Batang Nangka 4% n=6 Mean \pm SD
Ekspresi IL-1 α	2,53 \pm 0,62	4,19 \pm 1,17	3,56 \pm 0,80	3,04 \pm 0,83
<i>Saphiro wilk</i>	0,849*	0,210*	0,824*	0,127*
<i>Levene test</i>				0,355**
<i>One way ANOVA</i>				0,587
Ekspresi IL-6	1,99 \pm 0,52	7,73 \pm 0,86	8,95 \pm 0,90	7,59 \pm 0,76
<i>Shapiro wilk</i>	0,883*	0,007	0,382*	0,352*
<i>Levene test</i>				0,661**
<i>Kruskal-Wallis</i>				0,004***

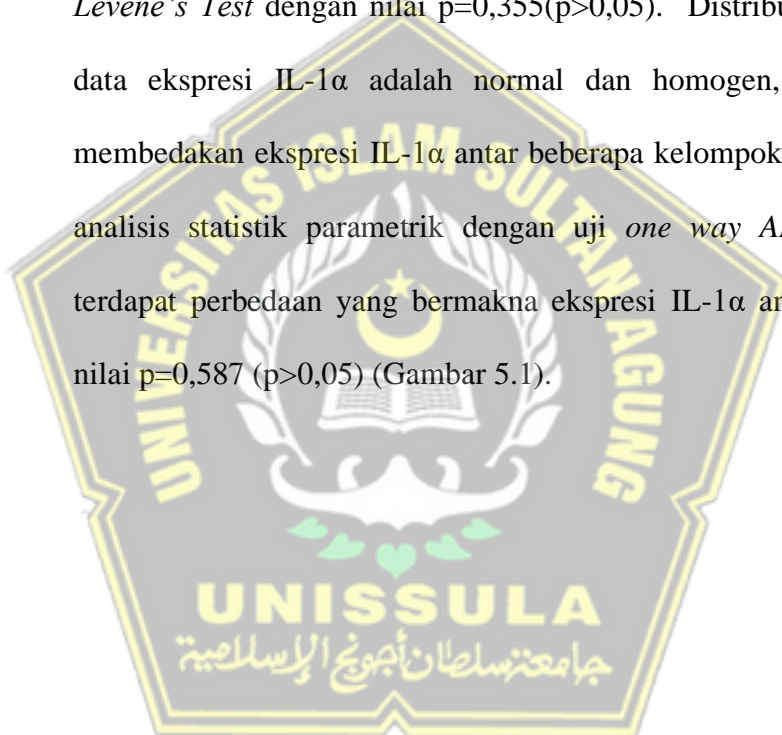
Keterangan :

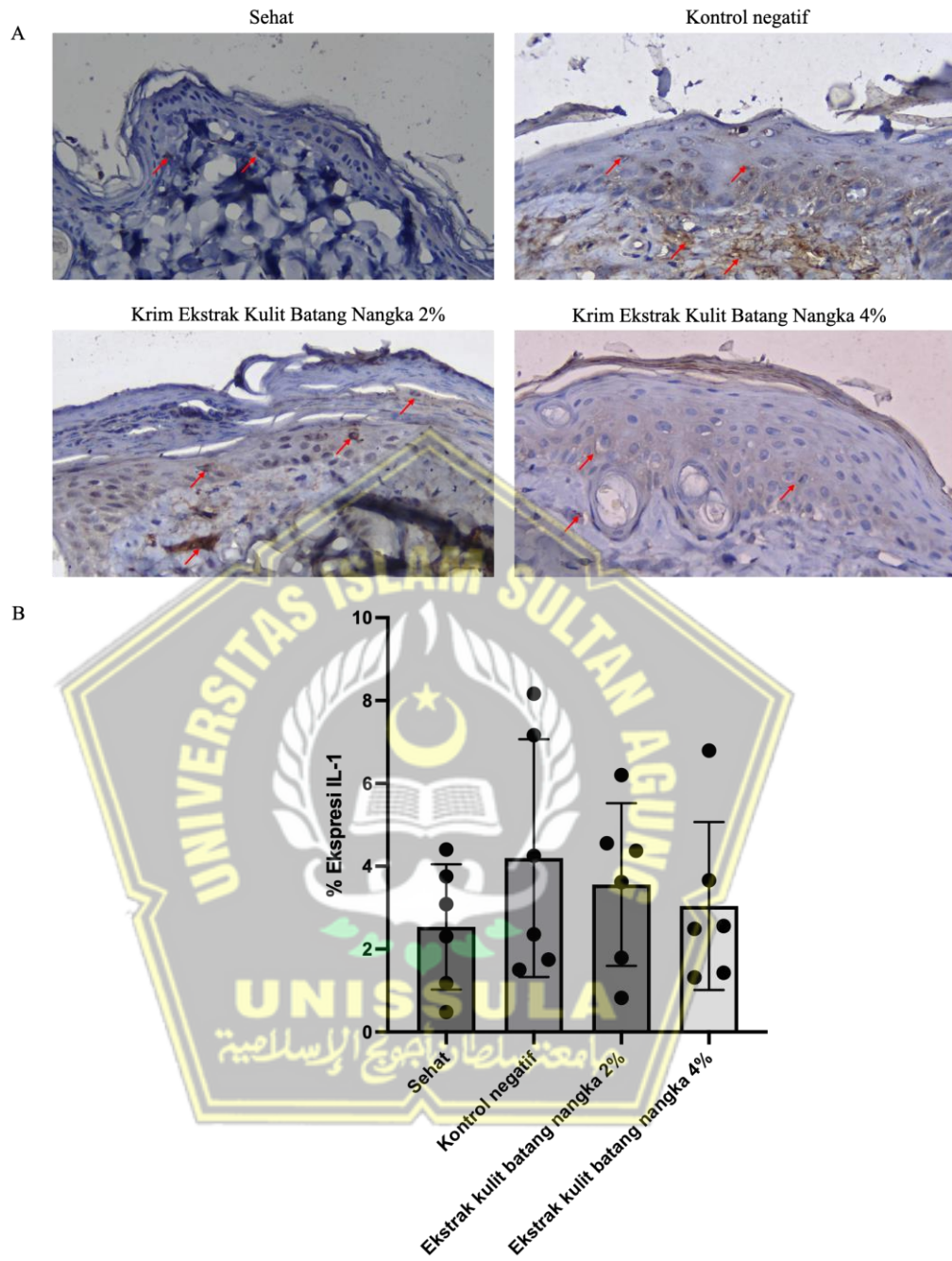
*Uji Saphiro Wilk ($p > 0,05$ = normal)

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

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

Tabel 5.2. Rerata ekspresi IL-1 α di kelompok krim ekstrak kulit batang nangka 4% yang terendah yaitu 3,04 \pm 0,83 dan ekspresi IL-1 α tertinggi yaitu pada kelompok kontrol negatif (4,19 \pm 1,17). Data ekspresi IL-1 α pada semua kelompok penelitian terdistribusi normal diperoleh nilai $p > 0,05$. Data penelitian ekspresi IL-1 α memiliki varian data yang homogen ditunjukkan dengan hasil *Levene's Test* dengan nilai $p = 0,355 (p > 0,05)$. Distribusi dan varian data ekspresi IL-1 α adalah normal dan homogen, maka untuk membedakan ekspresi IL-1 α antar beberapa kelompok di uji dengan analisis statistik parametrik dengan uji *one way ANOVA*. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna ekspresi IL-1 α antar kelompok nilai $p = 0,587 (p > 0,05)$ (Gambar 5.1).





Gambar 5.1. (A) Gambaran immunohistokimia ekspresi IL-1 α pada sampel kulit tikus dan (B) Grafik ekspresi IL-1 α pada seluruh kelompok penelitian.

Tabel 5.3. Uji *post hoc* LSD ekspresi IL-1 α pada masing-masing Kelompok

Kelompok	Kelompok Perbandingan	Sig.
Kontrol sehat	Kontrol negatif	0,195
	Krim ekstrak kulit batang angka 2%	0,419
	Krim ekstrak kulit batang angka 4%	0,688
Kontrol negatif	Krim ekstrak kulit batang angka 2%	0,613
	Krim ekstrak kulit batang angka 4%	0,363
Krim ekstrak kulit batang angka 2%	Krim ekstrak kulit batang angka 4%	0,681

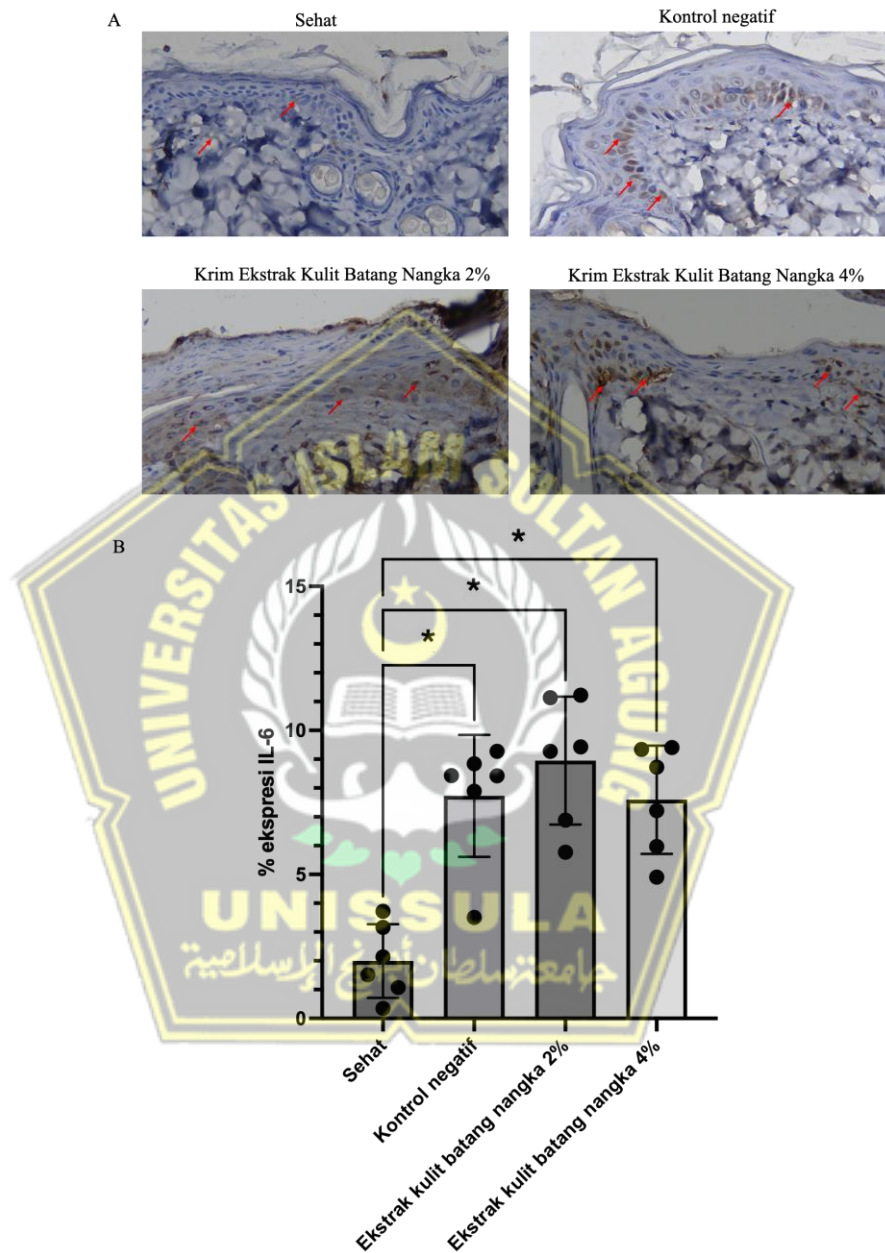
Berdasarkan data di atas didapatkan nilai signifikansi kontrol normal dengan kontrol negatif yaitu $p=0,195$ ($p>0,05$) yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Perbandingan kelompok kontrol negatif terhadap krim ekstrak kulit batang angka 2% memiliki nilai signifikan $p=0,613$ ($p>0,05$) dan terhadap krim ekstrak kulit batang angka 4% ($0,363$) yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Kelompok krim ekstrak kulit batang Nangka 2% terhadap krim ekstrak kulit batang Nangka 4% memiliki nilai $p=0,681$ ($p>0,05$) yang berarti tidak ada perbedaan yang bermakna. Secara keseluruhan pemberian krim ekstrak kulit batang nangka dapat menurunkan ekspresi IL-1 α secara efektif dosis 4% pada tikus Wistar yang diinduksi UVB.

5.1.3. Efek Pemberian Krim Ekstrak Kulit Batang Nangka Terhadap Ekspresi IL-6 Pada Tikus Galur Wistar Yang Dipapar UVB Akut

Berdasarkan hasil penelitian yang ditunjukkan pada tabel 5.2. Rerata ekspresi IL-6 di kelompok sehat yang terendah ($1,99\pm 0,52$). Pada kelompok kontrol negatif terjadi peningkatan ekspresi IL-6 hingga $7,73\pm 0,86$. Pemberian krim ekstrak kulit batang nangka 2% dan 4% memiliki trend yang berbeda. Pada krim ekstrak kulit batang nangka 2% mengalami peningkatan ekspresi IL-6 menjadi $8,95\pm 0,90$ dan pada kelompok krim ekstrak kulit batang nangka 4% mengalami penurunan ekspresi IL-6 hingga $7,59\pm 0,76$. Hasil uji normalitas dengan *Shapiro-wilk* diperoleh data pada kelompok sehat (0,883, kelompok kontrol negatif (0,007), kelompok krim ekstrak kulit batang nangka 2% (0,382), dan kelompok krim ekstrak kulit batang nangka 4% (0,352) yang berarti hanya pada kelompok kontrol negatif tidak terdistribusi normal karena nilai $p < 0,05$. Data penelitian ekspresi IL-6 memiliki varian data yang homogen ditunjukkan dengan hasil *Levene's Test* dengan nilai $p = 0,661$ ($p > 0,05$).

Distribusi dan varian data ekspresi IL-6 adalah tidak normal dan homogen, maka dilakukan analisis statistik non parametrik dengan uji *Kruskall wallis* menghasilkan nilai $p = 0,004$ ($p < 0,05$) sehingga dinyatakan terdapat perbedaan rerata ekspresi IL-6 yang signifikan di antara keempat kelompok (Gambar 5.2). Hasil uji

Kruskall wallis yang signifikan dilanjutkan dengan uji *Mann whitney* untuk melihat kelompok mana yang paling berpengaruh.



Gambar 5.2. (A) Gambaran immunohistokimia ekspresi IL-6 pada sampel kulit tikus dan (B) Grafik ekspresi IL-6 pada Seluruh Kelompok Penelitian. * ($p < 0,05$): berbeda signifikan. Tanpa tanda * menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan.

Tabel 5.4. Uji Mann-Whitney ekspresi IL-6 pada masing-masing Kelompok

Kelompok	Kelompok Perbandingan	Sig.
Kontrol sehat	Kontrol negatif	0,004*
	Krim ekstrak kulit batang angka 2%	0,004*
	Krim ekstrak kulit batang angka 4%	0,002*
Kontrol negatif	Krim ekstrak kulit batang angka 2%	0,310
	Krim ekstrak kulit batang angka 4%	0,937
Krim ekstrak kulit batang angka 2%	Krim ekstrak kulit batang angka 4%	0,310

Tanda * menunjukkan kelompok yang berbeda signifikan.

Berdasarkan data didapatkan perbandingan rerata kontrol normal dengan kontrol negatif memiliki nilai signifikan $p=0,004$ ($p<0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan. Perbandingan kelompok kontrol negatif terhadap krim ekstrak kulit batang angka 2% memiliki nilai signifikan $p=0,310$ ($p>0,05$) dan terhadap kelompok krim ekstrak kulit batang angka 4% juga memiliki nilai $p>0,05$ (0,937), hal ini menunjukkan antara kelompok tersebut tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Kelompok krim ekstrak kulit batang angka 2% terhadap krim ekstrak kulit batang angka 4% memiliki nilai $p=0,310$ ($p>0,05$) yang berarti tidak ada perbedaan yang bermakna. Secara keseluruhan pemberian krim ekstrak kulit batang angka 4% dapat menurunkan kadar IL-6 namun tidak signifikan jika di bandingkan dengan kelompok kontrol pada pada tikus Wistar yang diinduksi UVB.

5.2. Pembahasan

Paparan UV-B akut dapat menyebabkan respon inflamasi akut pada kulit. Proses ini melibatkan induksi berbagai sitokin pro-inflamasi termasuk IL-1 α dan IL-6⁴⁰. Produksi IL-6 dan IL-1 α setelah paparan UVB melibatkan beberapa jalur sinyal yaitu jalur sinyal NF- κ B sebagai salah satu jalur kunci, yang diaktifkan oleh radiasi UVB dan mengarah pada produksi IL-1 α , IL-6, dan TNF- α ^{41,42}. Penekanan ekspresi lipin-1 oleh radiasi UVB melalui aksis sinyal AMPK/JNK/SREBP-1 dapat memodulasi produksi IL-6⁴³. Sinar UVB juga menyebabkan kerusakan oksidatif DNA akibat peningkatan radikal bebas (ROS) yang ditandai dengan aktivasi NF- κ B untuk memproduksi sitokin proinflamasi⁴⁰. Pemberian senyawa antiinflamasi dan antioksidan dapat menurunkan sitokin proinflamasi sehingga menunjukkan efek protektif yang baik pada kulit. Penurunan stres oksidatif akibat paparan sinar UVB akut dapat dicegah dengan berbagai senyawa yang mampu menyeimbangkan radikal seperti senyawa flavonoid⁴⁴. Senyawa flavonoid terbukti positif pada ekstrak batang nangka, dengan konsentrasi 62,60 mg/mL pada setiap 1000 ppm. Adanya kandungan senyawa flavonoid tersebut terbukti dapat menurunkan ekspresi IL-1 α pada kulit tikus yang terpapar sinar UVB akut dibandingkan kelompok kontrol negatif. Namun, ekspresi IL-6 mengalami peningkatan dibandingkan kelompok kontrol negatif.

Pemberian krim ekstrak kulit batang nangka secara trend menurunkan ekspresi IL-1 α dan IL-6 pada dosis 4%. Pemberian krim ekstrak kulit batang

angka 2% dan 4% menurunkan ekspresi IL-1 α sebesar 3,56% dan 3,04% pada kulit tikus yang induksi sinar UVB akut. Penurunan ekspresi IL-1 α ini sejalan dengan penurunan ekspresi IL-6, dimana pada krim ekstrak kulit batang angka 4% terefektif menurunkan ekspresi IL-6 sebesar 7,59%. Hal ini membuktikan bahwa konsentrasi efektif krim ekstrak kulit batang angka dalam menurunkan ekspresi IL-1 α dan IL-6 pada kulit tikus yang diinduksi sinar UVB akut adalah pada konsentrasi 4%. Penelitian sebelumnya telah mengkonfirmasi bahwa senyawa antioksidan seperti flavonoid mampu menurunkan dan menjaga keseimbangan kadar ROS dengan cara meningkatkan pembentukan enzim antioksidan seperti SOD⁴⁵⁻⁴⁸. Regulasi keseimbangan antara level ROS dan antioksidan sangat penting dalam beberapa jalur transduksi sinyal seluler diantaranya pengaturan penekanan inflamasi⁴⁹. SOD adalah enzim yang secara bergantian mengubah H₂O₂ menjadi H₂O dan O₂⁵⁰. Telah dilaporkan bahwa SOD adalah salah satu faktor yang menghambat ekspresi IL-6 akibat adanya paparan sinar UVB.

Ekspresi IL-1 α dan IL-6 pada penelitian ini dianalisis dengan teknik immunohistokimia (IHC) yang ditandai dengan terbentuknya warna coklat pada antar sel di bagian epidermis dan dermis. Persentase positif ekspresi IL-1 α dan IL-6 pada penelitian ini dianalisis dengan membandingkan area yang positif berwarna coklat dan jumlah total luas area pada 5 lapang pandang. Pada penelitian ini trend penurunan ekspresi sitokin proinflamasi IL-1 α dan IL-6 pada kulit yang terpapar sinar UVB akut akibat pemberian krim ekstrak

kulit nangka dimungkinkan karena peran senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak kulit batang nangka. Hasil skrining fitokimia ekstrak kulit batang nangka yang diekstraksi dengan pelarut etanol terbukti hanya positif mengandung flavonoid dan negatif golongan senyawa alkaloid, tannin, dan saponin. Penelitian terdahulu melaporkan bahwa ekstrak kulit batang nangka yang diekstraksi dengan pelarut polar seperti etanol cenderung lebih banyak mengandung senyawa flavonoid.⁵¹ Kandungan fitokimia suatu tanaman juga dipengaruhi oleh lingkungan nutrisi tempat tinggal.^{51,52} Hal tersebut yang menyebabkan pada hasil skrining fitokimia ekstrak kulit batang nangka pada penelitian ini hanya positif mengandung flavonoid. Pada penelitian ini kandungan flavonoid total yaitu sebesar 62,60 mg/mL, berdasarkan referensi sebelumnya ekstrak kulit batang nangka yang diekstraksi dengan pelarut etil asetat mengandung senyawa flavonoid sebesar 28 ug/mL yang termasuk dalam kiaran kadungan flavonoid yang rendah.⁵³ Penelitian ekstrak nangka mengungkapkan bahwa mengandung 68 mg/100g sampel yang dikategorikan juga dalam kisaran sedang.⁵⁴ Sehingga berdasarkan literatur tersebut kandungan flavonoid pada penelitian ini relatif rendah. Penelitian standarisasi ekstrak kulit batang nangka dengan menggunakan pelarut etil asetat memiliki nilai flavonoid total yang lebih rendah yaitu 28,10µg/mL dibandingkan hasil pada penelitian ini, namun dengan pelarut etil asetat ekstrak kulit batang nangka mengandung metabolit sekunder lebih banyak yaitu flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan steroid.⁵⁵ Hasil yang tidak signifikan pada penelitian ini dimungkinkan karena ekstrak

pada penelitian ini hanya mengandung satu golongan senyawa yaitu flavonoid dan memiliki kadar yang termasuk rendah, hal tersebut yang mungkin menyebabkan pengaruh ekstrak kulit batang nangka 2% dan 4% terhadap ekspresi IL-1 α dan IL-6 tidak berbeda signifikan. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa kombinasi senyawa bioaktif ini dalam *Artocarpus communis* berkontribusi terhadap sifat anti-inflamasinya yang kuat. Efek sinergis dari fitokimia ini dapat membantu mengurangi peradangan melalui berbagai jalur, menjadikannya agen anti-inflamasi alami yang berpotensi efektif.^{56,57}

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak kulit batang nangka yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut methanol, pada dosis 0,5% dan 1% terbukti secara signifikan menurunkan ekspresi sitokin proinflamasi IL-1 β , TNF- α , dan COX-2.⁵⁸ Perbedaan pada penelitian ini adalah pelarut yang digunakan untuk ekstraksi yaitu etanol, methanol lebih efektif untuk mengekstraksi senyawa fenolik dan flavonoid karena polaritasnya lebih tinggi, hal ini memungkinkan methanol melarutkan berbagai senyawa polar yang dapat menghasilkan hasil ekstraksi yang lebih tinggi dan konsentrasi senyawa bioaktif yang lebih besar.⁵⁹ Senyawa spesifik yang diekstraksi dapat bervariasi antara pelarut. Metanol mengekstraksi agen antiinflamasi yang lebih kuat dibandingkan dengan etanol, yang dapat menjelaskan perbedaan aktivitas yang diamati.⁶⁰ Faktor lain yang memungkinkan adalah formula basis krim yang di gunakan pada penelitian ini mungkin tidak mendukung absorsi krim ekstrak kulit batang nangka pada kulit sehingga

membuat tidak efektif pada penelitian ini, bisa disebabkan karena bentuk sediaan yang digunakan. Pada penelitian ini menggunakan krim sebagai penghantaran topikal, komposisi krim, termasuk jenis minyak, pengemulsi, dan pengental yang digunakan, dapat memengaruhi laju pelepasan flavonoid. Komponen tertentu dapat membentuk penghalang atau berinteraksi dengan flavonoid, sehingga menghambat pelepasan dan penetrasinya ke dalam kulit.⁶¹

Senyawa flavonoid mempunyai kemampuan menghambat pelepasan stress oksidatif, mencegah berberbagai aktivasi faktor transkripsi seperti NF- κ B, meningkatkan ekspresi enzim antioksidan dengan meningkatkan ekspresi NF-E2-related factor 2 (Nrf2)-*Kelch-like ECH-associated protein 1* (Keap1) (Nrf-Kaep1 pathway)⁶²⁻⁶⁵. Inhibisi NF- κ B juga dapat menginduksi jalur IL-10 STAT3⁶⁶. Protein STAT3 akan masuk ke nucleus dan mencegah mengaktifasi sekuens mRNA SOSC3 yang kemudian akan diekspresikan secara intraseluler dan dapat menekan jalur pensinyalan proinflamasi, yaitu NF- κ B. Penekanan pada jalur NF- κ B akan menyebabkan penurunan sekresi sitokin proinflamasi salah satunya adalah IL-6 dan IL-1 α ^{67,68}. Penghambatan ekspresi NF- κ B dengan senyawa antioksidan seperti flavonoid pada krim ekstrak kulit batang nangka dapat menekan pelepasan sitokin proinflamasi seperti IL-6 dan IL-1 α sehingga menghambat inflamasi^{69,70}. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa flavonoid meningkatkan ekspresi Nrf2 yang menginduksi produksi berbagai enzim antioksidan superoxide dismutase, katalase, dan glutathion peroksidase^{71,72}.

Kondisi tersebut menekan ROS dan menghambat inflamasi seperti penghambatan ekspresi TNF, IL-6, dan IL-1 α ^{73,74}. Struktur C-6 pada flavonoid menghambat ekspresi NF-kB *signaling pathway*⁷⁵. Secara keseluruhan penelitian ini menunjukkan bahwa krim ekstrak kulit batang nangka memiliki potensi sebagai antioksidan dan antiinflamasi yang dapat melindungi kulit akibat radikal bebas dari UVB akut. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk pengembangan penggunaan krim ekstrak kulit batang nangka 4% sebagai fotoproteksi dari sinar UVB akut pada manusia melalui uji iritasi, potensi alergi dan uji aktivitas.

Pada penelitian ini menggunakan tikus wistar yang lebih tahan terhadap stress lingkungan⁷⁵, namun memiliki lapisan stratum korneum yang lebih tebal dibandingkan mencit Balb/c, sehingga menyebabkan kurang sensitifitas terhadap paparan UVB.⁷⁶ Hal ini yang menyebabkan hasil ekspresi IL-1 dan IL-6 tidak berbeda signifikan pada kelompok sehat dan kelompok kontrol negatif. Pada penelitian selanjutnya lebih baik menggunakan hewan model yang lebih sensitif seperti mencit Balb/c.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diatas, maka dapat disimpulkan :

1. Tidak terdapat perbedaan ekspresi antara pemberian krim ekstrak kulit batang nangka dosis 2% dan 4% secara topikal terhadap ekspresi IL-1 α pada kulit tikus jantan galur wistar yang dipapar UVB akut.
2. Tidak terdapat pengaruh signifikan pemberian krim ekstrak kulit batang nangka dosis 2% dan 4% secara topikal terhadap ekspresi IL-6 pada kulit tikus jantan galur wistar yang dipapar UVB akut.

6.2. Saran

Saran untuk penelitian ini adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan hewan model yang lebih sensitif terhadap paparan UVB seperti mencit Balb/c.
2. Perlu dilakukan ekstraksi kulit batang nangka dengan menggunakan metanol.
3. Perlu dilakukan optimasi formula krim yang bisa mendukung efek ekstrak kulit batang nangka.

DAFTAR PUSTAKA

1. Yusharyahya SN. Mekanisme Penuaan Kulit sebagai Dasar Pencegahan dan Pengobatan Kulit Menua. *eJournal Kedokteran Indonesia*. 2021 Sep 1;9(2):150.
2. Ansary TM, Hossain MR, Kamiya K, Komine M, Ohtsuki M. Inflammatory molecules associated with ultraviolet radiation-mediated skin aging. Vol. 22, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI; 2021.
3. Quan T, Qin Z, Xia W, Shao Y, Voorhees JJ, Fisher GJ. Matrix-degrading metalloproteinases in photoaging. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. 2009;14(1):20–4.
4. Mirastschijski U, Lupše B, Maedler K, Sarma B, Radtke A, Belge G, et al. Matrix metalloproteinase-3 is key effector of TNF- α -induced collagen degradation in skin. *Int J Mol Sci*. 2019;20(20):1–14.
5. Lee CW, Ko HH, Chai CY, Chen WT, Lin CC, Yen FL. Effect of *Artocarpus communis* extract on UVB irradiation-induced oxidative stress and inflammation in hairless mice. *Int J Mol Sci*. 2013 Feb;14(2):3860–73.
6. Shah H, Rawal Mahajan S. Photoaging: New insights into its stimulators, complications, biochemical changes and therapeutic interventions. Vol. 3, *Biomedicine and Aging Pathology*. 2013. p. 161–9.
7. C T Pratama GM, Gusti B R M Hartawan IN, Gusti T Indriani IA, Yusrika MU, A Suryantari SA, S Satyarsa AB, et al. Potensi Ekstrak *Spirulina platensis* sebagai Tabir Surya terhadap Paparan Ultraviolet B Potency of *Spirulina platensis* Extract as Sunscreen on Ultraviolet B Exposure. Vol. 2, *Journal of Medicine and Health Potensi Ekstrak Spirulina platensis*. 2020.
8. Snyder A, Valdebran M, Terrero D, Amber KT, Kelly KM. Solar ultraviolet exposure in individuals who perform outdoor sport activities. *Sports medicine-open*. 2020; 6:1-2.
9. Swami SB, Thakor NJ, Haldankar PM, Kalse SB. Jackfruit and Its Many Functional Components as Related to Human Health: A Review. 2012;565–76.
10. García-Gavín J, González-Vilas D, Fernández-Redondo V, Toribio J. Pigmented contact dermatitis due to kojic acid. A paradoxical side effect of a skin lightener. *Contact Dermatitis*. 2010;62(1):63–4.

11. Baliña LM, Graupe K. The Treatment of Melasma 20% Azelaic Acid versus 4% Hydroquinone Cream. *Int J Dermatol*. 1991;30(12):893–5.
12. Sarkar R, Bhalla M, Kanwar AJ. A comparative study of 20% azelaic acid cream monotherapy versus a sequential therapy in the treatment of melasma in dark-skinned patients. *Dermatology*. 2002;205(2–3):249–54.
13. Asmaliani I, Iwo MI. Uji aktivitas antiinflamasi dari ekstrak metanol daun nangka (*artocarpus heterophyllus lam.*) terhadap tikus yang diinduksi karagenan lambda. *As-Syifaa*. 2016;08(02).
14. Sabrina Azani A, Kamilla L, Kunci K, Darah Merah S. Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Biji Nangka (*Artocarpus heterophyllus Lam.*) Terhadap Stabilisasi Membran Sel Darah Merah. 2023;7(1):102–6.
15. Silalahi M. Pemanfaatan Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) Sebagai Obat Tradisional dan Bioktivitiesnya. *Husada Mahakam: Jurnal Kesehatan*. 2021;11(1):42-53.
16. Anggriana A. Characteristic Characteristic of Jack Fruit (*Artocarpus heterophyllus Lamk.*) Fast Food which Marketed in Palu City. Vol. 5, e-J. *Agrotekbis*. 2017.
17. Mawardika H, Wahyuni D, Ma'rifatul Khasanah S. Salmonella typhi Antibacterial Potency of Jackfruit Leaf Extract (*Artocarpus heterophyllus L.*) Against Salmonella typhi. Vol. 20, *Jurnal Farmasi Indonesia*. 2023. Available from: <http://journals.ums.ac.id/index.php/pharmacon>
18. Supriyanti FMT, Dwiyantri G, Susilo NA. *Artocarpus heterophyllus Lamk* dan aplikasinya . 2013;614–25.
19. Samara A. Evaluation of Antioxidant Activity, Total Flavonoids, Tannins and Phenolic Compounds in Psychotria Leaf Extracts. *Antioxidant*. 2014;745–57.
20. Hartanti L, Setiawan HK. Inhibitory potential of some synthetic cinnamic acid derivatives towards tyrosinase enzyme. *Journal Chemistry*. 2009;9:158–68.
21. Maksimal F. reactive oxygen species. *Cells press*. 2016;176–89.
22. Chang T. An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors. *Journal Hyperpigmentation*. 2009;2440–75.

23. Tanjung E, Ms MH, Thalib I, Suhartono E. Evaluation of Antioxidant Activity of Some Selected Tropical Fruits in South Kalimantan , Indonesia. 2014;2010–4.
24. Trends C. Anti-aging Effects of Select Botanicals: Scientific. . doi:103390/cosmetics5030054. 2018;1–15.
25. Draelos ZD, editor. Cosmetic dermatology: products and procedures. John Wiley & Sons; 2021 Dec 29.
26. INDONESIA P, BUKAN T. Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2012;1–28.
27. Kariosentono H. Kelainan Pigmentasi Kulit dan Penuaan Dini serta Peran Pendidikan Kedokteran DIBidang Ilmu Kesehatan Kulit & Kelamin. . 2015;
28. P MYC. Pengaruh pemberian ekstrak kulit batang nangka (*artocarpus heterophyllus lamk .*) terhadap gambaran histopatologi cerebrum mencit yang diinfeksi *Toxoplasma gondii*. . 2015;
29. Yanhendri SW. Berbagai bentuk sediaan topikal dalam dermatologi. *Cermin Dunia Kedokteran*. 2012;194(39):6.
30. Addor FAS. Antioxidants in dermatology. *An. Bras. Dermatol*. 2017;356–62.
31. Bashir MM, Sharma MR, Werth VP. UVB and proinflammatory cytokines synergistically activate TNF- α production in keratinocytes through enhanced gene transcription. *Journal of Investigative Dermatology*. 2009 Apr;129(4):994–1001.
32. Jang JY, Min JH, Chae YH, Baek JY, Wang S Bin, Park SJ, et al. Reactive oxygen species play a critical role in collagen-induced platelet activation via shp-2 oxidation. *Antioxid Redox Signal*. 2014;20(16):2528–40.
33. Kwon KR, Alam MB, Park JH, Kim TH, Lee SH. Attenuation of UVB-induced photo-aging by polyphenolic-rich *spatholobus suberectus* stem extract via modulation of MAPK/AP-1/MMPs signaling in human keratinocytes. *Nutrients*. 2019;11(6).
34. Cho JW, Il KJ, Lee KS. Downregulation of type I collagen expression in silibinin-treated human skin fibroblasts by blocking the activation of smad2/3-dependent signaling pathways: Potential therapeutic use in the chemoprevention of keloids. *Int J Mol Med*. 2013;31(5):1148–52.

35. Varela MT, Ferrarini M, Mercaldi VG, Sufi B da S, Padovani G, Nazato LIS, et al. Coumaric acid derivatives as tyrosinase inhibitors: Efficacy studies through in silico, in vitro and ex vivo approaches. *Bioorg Chem.* 2020 Oct;103:104108.
36. Zhang X, Feng C, Wang S, Wang Y, Fu Z, Zhang Y, et al. A novel amphibian-derived peptide alleviated ultraviolet B-induced photodamage in mice. *Biomedicine and Pharmacotherapy.* 2021 Apr 1;136.
37. Yin S, Wang Y, Liu N, Yang M, Hu Y, Li X, et al. Potential skin protective effects after UVB irradiation afforded by an antioxidant peptide from *Odorrana andersonii*. *Biomedicine and Pharmacotherapy.* 2019 Dec 1;120.
38. Barré-Sinoussi F, Montagutelli X. Animal models are essential to biological research: Issues and perspectives. Vol. 1, *Future Science OA.* Future Medicine Ltd.; 2015.
39. Husaana A, Suparmi, Murti HA. Protective effect of bixin isolated from *Bixa orellana* L. Seeds on UVB-induced inflammation and immunosuppression of the skin. Vol. 18, *Bangladesh Journal of Medical Science.* Ibn Sina Trust; 2019. p. 107–11.
40. Subedi L, Lee TH, Wahedi HM, Baek SH, Kim SY. Resveratrol-Enriched Rice Attenuates UVB-ROS-Induced Skin Aging via Downregulation of Inflammatory Cascades. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017.
41. Cooper S, Bowden G. Ultraviolet B Regulation of Transcription Factor Families: Roles of Nuclear Factor-kappa B (NF- κ B) and Activator Protein-1 (AP-1) in UVB-Induced Skin Carcinogenesis. *Curr Cancer Drug Targets.* 2007;7(4):325–34.
42. Bashir MM, Sharma MR, Werth VP. UVB and proinflammatory cytokines synergistically activate TNF- α production in keratinocytes through enhanced gene transcription. *Journal of Investigative Dermatology.* 2009;129(4):994–1001.
43. Egrilmez MY, Kocturk S, Aktan S, Oktay G, Resmi H, Keskin HS, et al. Melatonin Prevents UVB-Induced Skin Photoaging by Inhibiting Oxidative Damage and MMP Expression through JNK/AP-1 Signaling Pathway in Human Dermal Fibroblasts. *Life.* 2022 Jul 1;12(7).
44. Brunetti C, di Ferdinando M, Fini A, Pollastri S, Tattini M. Flavonoids as antioxidants and developmental regulators: Relative significance in plants and humans. Vol. 14, *International Journal of Molecular Sciences.* 2013. p. 3540–55.

45. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: An overview. *J Nutr Sci.* 2016;5.
46. Veeramuthu D, Raja WRT, Al-Dhabi NA, Savarimuthu I. Flavonoids: Anticancer Properties. *Flavonoids - From Biosynthesis to Human Health.* 2017;
47. Zaidun NH, Thent ZC, Latiff AA. Combating oxidative stress disorders with citrus flavonoid: Naringenin. *Life Sci.* 2018;208(June):111–22.
48. Banjarnahor SDS, Artanti N. Antioxidant properties of flavonoids. *Medical Journal of Indonesia.* 2014;23(4):239–44.
49. Kim HY, Sah SK, Choi SS, Kim TY. Inhibitory effects of extracellular superoxide dismutase on ultraviolet B-induced melanogenesis in murine skin and melanocytes. *Life Sci.* 2018 Oct 1;210:201–8.
50. Chakraborty K, Joseph D, Praveen NK. Antioxidant activities and phenolic contents of three red seaweeds (Division: Rhodophyta) harvested from the Gulf of Mannar of Peninsular India. *J Food Sci Technol.* 2015 Apr 1;52(4):1924–35.
51. Sreeja Devi PS, Kumar NS, Sabu KK. Phytochemical profiling and antioxidant activities of different parts of *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Moraceae): A review on current status of knowledge. *Futur J Pharm Sci.* 2021 Dec;7(1).
52. Ranasinghe RASN, Maduwanthi SDT, Marapana RAUJ. Nutritional and Health Benefits of Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.): A Review. Vol. 2019, *International Journal of Food Science.* Hindawi Limited; 2019.
53. Chavez-Santiago JO, Rodríguez-Castillejos GC, Montenegro G, Bridi R, Valdes-Gomez H, Alvarado-Reyna S, Castillo-Ruiz O, Santiago-Adame R. Phenolic content, antioxidant and antifungal activity of jackfruit extracts (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). *Food Science and Technology.* 2021; 42:e02221.
54. Purnama NS, Hasan H, Pakaya MS. Standarisasi Dan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Nangka (*Artocarpus Heterophyllus* L). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education.* 2021; 1(3):142-51.
55. Kristanti H, Tunjung WAS. Detection of alkaloid, flavonoid, and terpenoid compounds in bread (*artocarpus communis* forst.) leaves and pulps. *KnE Life Sciences.* 2015 Sep 20;2(1):129.

56. Stella G, Ratna S, Deni R. Pengaruh ekstrak kombinasi dan mikroemulsifikasi terhadap aktivitas hambatan tirosinase dan antioksidan dari kulit batang nangka (*artocarpus heterophyllus* l.) dan kulit buah delima (*punica granatum* l.). *Open Journal System*. 2023;17(8).
57. Lee CW, Ko HH, Chai CY, Chen WT, Lin CC, Yen FL. Effect of *Artocarpus communis* extract on UVB irradiation-induced oxidative stress and inflammation in hairless mice. *Int J Mol Sci*. 2013 Feb;14(2):3860–73.
58. Borges A, José H, Homem V, Simões M. Comparison of techniques and solvents on the antimicrobial and antioxidant potential of extracts from *acacia dealbata* and *olea europaea*. *Antibiotics*. 2020 Feb 1;9(2).
59. Sultana B, Anwar F, Ashraf M. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*. 2009 Jun;14(6):2167–80.
60. Pecorini G, Ferraro E, Puppi D. Polymeric Systems for the Controlled Release of Flavonoids. Vol. 15, *Pharmaceutics*. MDPI; 2023.
61. Ren H, Hao J, Liu T, Zhang D, Lv H, Song E, et al. Hesperetin Suppresses Inflammatory Responses in Lipopolysaccharide-Induced RAW 264.7 Cells via the Inhibition of NF- κ B and Activation of Nrf2/HO-1 Pathways. *Inflammation*. 2016;39(3):964–73.
62. van Nguyen T, Piao CH, Fan YJ, Shin DU, Kim SY, Song HJ, et al. Anti-allergic rhinitis activity of α -lipoic acid via balancing Th17/Treg expression and enhancing Nrf2/HO-1 pathway signaling. *Sci Rep*. 2020 Dec 1;10(1).
63. Ahmed SMU, Luo L, Namani A, Wang XJ, Tang X. Nrf2 signaling pathway: Pivotal roles in inflammation. Vol. 1863, *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. Elsevier B.V.; 2017. p. 585–97.
64. Ahmed SMU, Luo L, Namani A, Wang XJ, Tang X. Nrf2 signaling pathway: Pivotal roles in inflammation. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* [Internet]. 2017;1863(2):585–97. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.11.005>
65. Huang YH, Chen MH, Guo QL, Chen ZX, Chen QD, Wang XZ. Interleukin-10 induces senescence of activated hepatic stellate cells via STAT3-p53 pathway to attenuate liver fibrosis. *Cell Signal*. 2020;66(October 2019):109445.

66. Mühl H, Dhingra S, Booz GW, Goren NB, Cevey AC, Penas FN, et al. IL-10/STAT3/SOCS3 Axis Is Involved in the Anti-inflammatory Effect of Benznidazole. *Frontiers in Immunology*. 2019;1:1267.
67. Saraiva M, O'Garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nat Rev Immunol*. 2010;10(3):170–81.
68. Song F, Yu X, Zhong T, Wang Z, Meng X, Li Z, et al. Caspase-3 inhibition attenuates the cytopathic effects of EV71 infection. *Front Microbiol*. 2018 Apr 26;9(APR).
69. Pu X, Storr SJ, Zhang Y, Rakha EA, Green AR, Ellis IO, et al. Caspase-3 and caspase-8 expression in breast cancer: caspase-3 is associated with survival. *Apoptosis*. 2017;22(3):357–68.
70. Ma Q. Role of Nrf2 in oxidative stress and toxicity. Vol. 53, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 2013. p. 401–26.
71. Saha S, Buttari B, Panieri E, Profumo E, Saso L. An Overview of Nrf2 Signaling Pathway and Its Role in Inflammation. *Molecules*. 2020;25(22):1–31.
72. Jha K, Shukla M, Pandey M. Survivin expression and targeting in breast cancer. Vol. 21, *Surgical Oncology*. Elsevier; 2012. p. 125–31.
73. Jaiswal PK, Goel A, Mittal RD. Survivin: A molecular biomarker in cancer. *Indian Journal of Medical Research*. 2015;142(April):389–97.
74. Luo Y, Ren Z, Du B, Xing S, Huang S, Li Y, et al. Structure Identification of ViceninII Extracted from *Dendrobium officinale* and the Reversal of TGF- β 1-Induced Epithelial–Mesenchymal Transition in Lung Adenocarcinoma Cells through TGF- β /Smad and PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathways. *Molecules*. 2019 Jan 2;24(1).
75. VS H. Impact of environmental conditions on the levels of stress and breeding performance in Wistar rats: conventional environment versus environmentally controlled housing. *The Applied Biology & Chemistry Journal*. 2021 Jun 19;53–8.
76. Turner P V, Brabb T, Pekow C, Vasbinder MA. Administration of Substances to Laboratory Animals: Routes of Administration and Factors to Consider. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 2011;50(5):600–13.