

**PENGARUH PEMBERIAN EMULGEL EKSTRAK TOMAT (*SOLANUM
LYCOPERSICUM L.*) SECARA TOPIKAL TERHADAP EKSPRESI
*SUPEROXIDE DISMUTASE DAN TUMOR NECROSIS FACTOR- ALPHA***

(Studi *In-Vivo* pada mencit yang dipapar UVB Akut)

TESIS

Untuk Memenuhi Persyaratan Mencapai Derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Mawadah MBK.2321010363

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

2024

TESIS
PENGARUH PEMBERIAN EMULGEL EKSTRAK TOMAT
(*SOLANUM LYCOPERSICUM L.*) SECARA TOPIKAL
TERHADAP EKSPRESI *SUPEROXIDE DISMUTASE* DAN
TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA

(Studi *In-Vivo* pada mencit yang dipapar sinar UVB akut)

Disusun Oleh:

Mawadah

MBK.2321010363

Dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 25 November 2024 dan telah dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima.

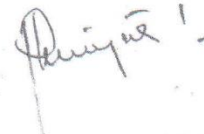
Menyetujui,

Pembimbing I



Dr. dr. Pasid Harlisa,
Sp.D.V.E, FINS DV, FAADV
NIK. 210104084

Pembimbing II



Prof. Prasetyowati Subchan,
Sp.D.V.E, Subs.D.K.E, FINS DV, FAADV
NIK. 8951110021

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik



Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B., FINACS

NIK.210113160

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah original hasil pekerjaan saya sendiri dengan bimbingan dari dosen pembimbing yang ditetapkan dengan surat keputusan Program Studi Magister Biomedik Universitas Islam Sultan Agung. Tesis ini di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar magister di suatu Perguruan Tinggi dan Lembaga Pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan ataupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 25 November 2024



Mawadah

(Mawadah)

RIWAYAT HIDUP

Identitas

1. Nama : Mawadah
2. Tempat/Tanggal Lahir : Jakarta, 7 Januari 1984
3. Agama : Islam
4. Jenis Kelamin : Perempuan

Riwayat Pendidikan

1. SDN 04 Pagi, Pondok Labu, Jakarta Selatan, tamat 1995
2. SMPN 85 Pondok Labu, Jakarta Selatan, tamat 1998
3. SMAN 66 Bango, Cilandak, Jakarta Selatan, tamat 2002
4. S1 Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta, tamat 2010
5. S2 Biomedik FK Unissula, sejak 2023 – sekarang.

Riwayat Pekerjaan

1. Dokter Praktik di Klinik Maheda Saba Tama, Caman, Bekasi 2009-2010
2. Dokter Praktik Bersama Apotek K24, Bekasi Selatan 2010-2011
3. Dokter Praktik di klinik Ellis Estetika, Bekasi, 2011 – sekarang.

Riwayat Keluarga

1. Ayah : H. Hasanuddin
2. Ibu : Hj. Irma Brori
3. Suami : dr. H. Anwar Fathoni Harahap, MARS
4. Anak :
 1. Husni Alfiyan Harahap
 2. Aisyah Harahap
 3. Ihsan Naufal Harahap
 4. Afif Bisyri Harahap

KATA PENGANTAR

Puji Syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini. Shalawat dan salam semoga senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW yang telah membawa risalah Islam yang penuh dengan ilmu pengetahuan.

Penyusunan tesis yang berjudul “Pengaruh Pemberian Emulgel Ekstrak Tomat (*Solanum Lycopersicum* L.) secara topikal terhadap ekspresi SOD (*Superoxide Dismutase*) dan TNF- α (*Tumor Necrosis Factor-Alpha*) (Studi *In-Vivo* pada mencit yang dipapar UV-B akut) ini merupakan salah satu tugas yang harus penulis selesaikan selama menjalani pendidikan pada Magister Biomedik.

Penulis sadar banyak terdapat kekurangan dalam proses penyusunan tesis ini, dikarenakan keterbatasan kemampuan penulis sendiri. Kalaupun pada akhirnya karya ini dapat terselesaikan tentulah karena beberapa pihak yang telah membantu dalam penyusunan tesis ini. Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada:

1. Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang Bapak Prof. Dr. Gunarto, SH., M.Hum.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, SH., SpKF.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B., FINACS.
4. Dr. dr. Pasid Harlisa, Sp.D.V.E, FINS DV, FAADV sebagai pembimbing I yang telah meluangkan waktu sepenuh hati untuk memberikan bimbingan,

mendukung, serta mengarahkan penulis sehingga penulis termotivasi untuk menyelesaikan tesis ini dengan baik.

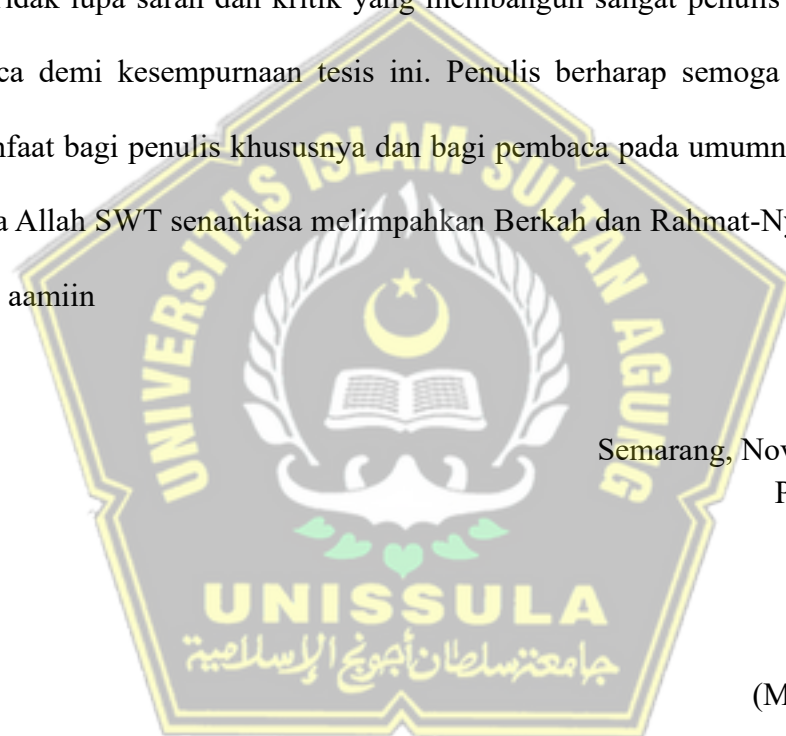
5. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp.D.V.E, Subsp.D.K.E, FINS DV, FAADV sebagai pembimbing II, yang telah meluangkan waktu sepenuh hati untuk memberikan bimbingan, mendukung, serta mengarahkan penulis sehingga penulis termotivasi untuk menyelesaikan tesis ini dengan baik.
6. Prof. Dr. Suwaldi Martodihardjo, MSc, Apt sebagai penguji I, yang telah memberikan masukan, mendukung serta mengarahkan penulis sehingga penulis termotivasi untuk menyelesaikan tesis tesis ini dengan baik.
7. Dr. Atina Husaana, Msi, Apt. sebagai penguji II, yang telah memberikan masukan, mendukung serta mengarahkan penulis sehingga penulis termotivasi untuk menyelesaikan tesis tesis ini dengan baik.
8. Prof. Dr. Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes sebagai penguji III, yang telah memberikan masukan, mendukung serta mengarahkan penulis sehingga penulis termotivasi untuk menyelesaikan tesis tesis ini dengan baik.
9. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik, yang telah memberikan arahan dan bimbingan untuk mendalami ilmu Biomedik.
10. Seluruh pegawai dan dokter di Laboratorium kimia, IBL Universitas Sultan Agung yang telah terlibat dalam penelitian ini dan telah bekerjasama dan berkontribusi dalam proses penelitian ini.
11. Staff dan dokter Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Sebelas Maret Surakarta, Solo yang telah terlibat dalam penelitian ini, dan telah bekerjasama dan berkontribusi dalam proses penelitian ini.

12. Segenap Staf Administrasi program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

13. Suami, kedua orang tua dan anak-anak tercinta serta seluruh keluarga saya yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu atas segala dukungan dan doanya.

14. Kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Tidak lupa saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan dari pembaca demi kesempurnaan tesis ini. Penulis berharap semoga penelitian ini bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya. Akhir kata semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan Berkah dan Rahmat-Nya kepada kita semua, aamiin



Semarang, November 2024
Penulis,

(Mawadah)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	i
PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP	v
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR SINGKATAN	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
ABSTRAK	xvii
ABSTRACT	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.3.1. Tujuan Umum	5
1.3.2. Tujuan khusus	5
1.4. Manfaat Penelitian	5
1.5. Originalitas Penelitan	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	11
2.1. SOD	11
2.2. Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α)	14
2.3. Tomat (<i>Solanum Lycopersicum</i> L.)	17
2.3.1. Mengenal Tomat.....	17
2.3.2. Kandungan Nutrisi dan Senyawa bioaktif tomat.	18
2.4. Paparan Akut UVB	24
2.5. Sediaan Topikal Emulgel	27

2.5.1. Sediaan Topikal	27
2.5.2. Perkembangan sediaan topikal emulgel	28
2.5.3. Formulasi Emulgel	29
2.6. Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Ekstraksi Tomat.....	
31 2.7. Pengaruh Emulgel ekstrak tomat topikal terhadap kadar SOD dan TNF-alfa pada mencit yang dipapar UVB akut	33
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS	36
3.1.Kerangka Teori	36
3.2.Kerangka Konsep	40
3.3.Hipotesis	41
BAB IV METODE PENELITIAN	42
4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian	42
4.2. Subjek dan Sampel Penelitian	42
4.2.1. Subjek Penelitian	42
4.2.2. Sampel Penelitian	43
4.2.3. Besar Sampel Penelitian	43
4.2.4. Cara Penentuan Sampel Penelitian	44
4.3. Variabel dan Definisi Operasional	44
4.3.1. Variabel	44
4.3.2. Definisi Operasional Variabel	44
4.4. Instrumen dan Bahan Penelitian	46
4.4.1. Instrumen dan Penelitian	46
4.4.2. Bahan Penelitian	46
4.5. Cara Penelitian	47
4.5.1 Perolehan Critical Clearance	47
4.5.2. Cara Membuat Ekstrak Tomat	47
4.5.3. Skrinning Likopen	47
4.5.4. Uji Aktivitas Antioksidan	48
4.5.5. Cara Membuat Emulgel Ektstrak Tomat	48
4.5.6. Penetapan Dosis	49
4.5.7. Penyinaran UVB dan perlakuan	50

4.5.8. Pengambilan Sampel Jaringan	51
4.5.9. Prosedur Pemeriksaan IHC SOD dan TNF- α	52
4.6. Tempat dan Waktu Penelitian	54
4.7. Analisa Data	55
4.8. Alur Penelitian	56
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	57
5.1 Hasil Penelitian	57
5.1.1. Uji DPPH dan Skrining Likopen.....	57
5.1.2. IHC SOD dan TNF- α	57
5.1.3. Analisa data SOD dan TNF- α	60
5.1.4. Perbedaan Ekspresi SOD dan TNF- α	61
5.2. Pembahasan	63
Bab VI. KESIMPULAN DAN SARAN	70
6.1. Kesimpulan	70
6.2. Saran	70
DAFTAR PUSTAKA	72
LAMPIRAN	78



DAFTAR SINGKATAN



UVB	: Ultraviolet B
SOD	: <i>Superoxide Dismutase</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor-Kappa Beta</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor-Alpha</i>
AP-1	: <i>Activator Protein-1</i>
CAT	: <i>Catalase</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay.</i>
GPX	: <i>Glutathione Peroxidase</i>
IC50	: <i>Half Maximal Inhibitory Concentration</i>
IHC	: <i>Immunohistochemistry.</i>
JNK	: <i>c-Jun-N-Terminal-Kinase</i>
MED	: <i>Minimal Erythem Dose</i>
p38 MAPK	: <i>p38 Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
SBC	: <i>Sunburn Cell</i> جامعته سلطان أبجوع الإسلامية
COX-2	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
TYRP2	: <i>Tyrosinase Related Protein-2</i>
TNFR1	: <i>TNF Receptor 1</i>
TNFR2	: <i>TNF Receptor 2</i>
TRADD	: <i>TNF Receptor Associated Death Domain</i>
MLKL	: <i>Mixed Lineage Kinase Domain Like Protein</i>
TRAF	: <i>TNF Receptor Associated Factor</i>
MHC	: <i>Major Histocompatibility Complex</i>

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian	6
Tabel 2.1. Kandungan Tomat	19
Tabel 2.2. Kandungan Mineral dalam tomat	22
Tabel 2.3. Respon Normal Kulit Terhadap UV	25
Tabel 2.4. Kategori IC 50.....	32
Tabel 4.1. Formula Basis Emulgel	49
Tabel 4.2. Formula Emulgel Yang Dibuat	49
Tabel 5.1. Hasil Analisis Rerata SOD dan TNF- α	60
Tabel 5.2. Perbedaan Ekspresi SOD antar 2 kelompok	61
Tabel 5.3. Perbedaan Ekspresi TNF- α antar 2 kelompok	62

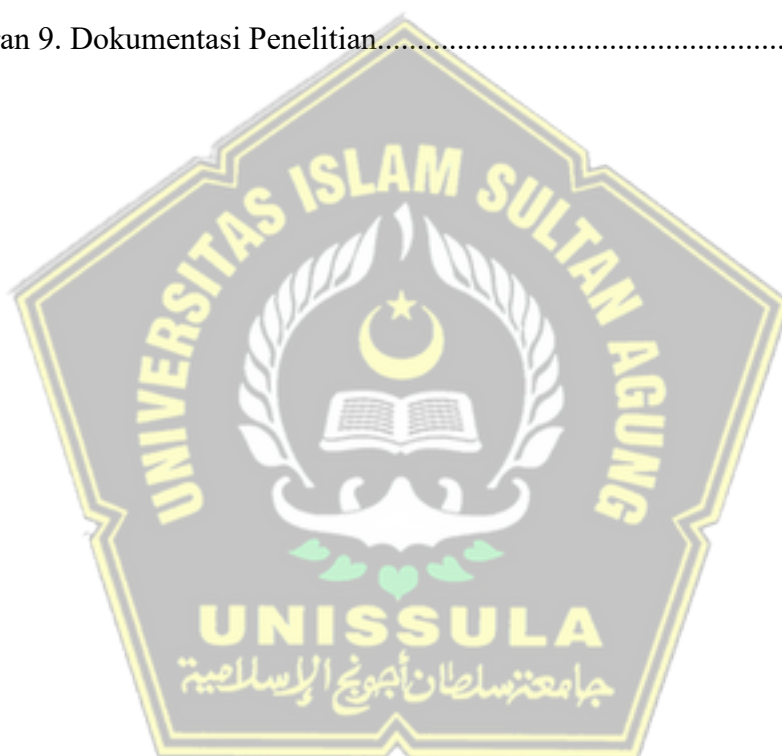


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Letak SOD	12
Gambar 2.2	Jalur Pensinyalan TNF- α	15
Gambar 2.3	Tomat	17
Gambar 2.4	Struktur Likopen	19
Gambar 2.5	Aktivitas Antioksidan Likopen	20
Gambar 2.6	Aktivitas Antiinflamasi Likopen ,.....	21
Gambar 2.7	Radiasi UV	24
Gambar 2.8	Skema Radiasi UV	25
Gambar 2.9	Faktor Yang Mempengaruhi Emulgel dan Permeasinya.....	29
Gambar 2.10	Langkah-Langkah Persiapan Emulgel.....	31
Gambar 3.1	Kerangka Teori	39
Gambar 4.1	Alur Rancangan Penelitian	41
Gambar 5.1	IHC SOD	58
Gambar 5.2	IHC TNF- α	59

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Ethical Clearanxe	78
Lampiran 2. Surat Izin Penelitian.....	79
Lampiran 3. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan.....	80
Lampiran 4. Hasil Uji Farmakologi	81
Lampiran 5. Hasil Pembacaan Ekspresi SOD dan TNF- α	84
Lampiran 6. Surat Keterangan Penelitian.....	83
Lampiran 7. Uji Statistika	85
Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian.....	92



ABSTRAK

Latar Belakang: Radiasi UVB akut meningkatkan ROS yang memicu stres oksidatif pada kulit. Tomat mengandung senyawa bioaktif seperti likopen, yang berperan sebagai antioksidan dan anti inflamasi. Ekstrak tomat diformulasikan dalam bentuk emulgel. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi pengaruh pemberian emulgel ekstrak tomat terhadap peningkatan ekspresi SOD dan penurunan ekspresi TNF- α pada kulit mencit yang dipapar UVB akut.

Metode Penelitian: Penelitian eksperimental dengan *post-test only control group*. Subjek penelitian adalah mencit *BALB/c* yang dibagi menjadi empat kelompok yaitu K1 (kontrol normal), K2 (kontrol negatif, paparan UVB & basis emulgel), K3 (paparan UVB + emulgel ekstrak tomat 10%) dan K4 (paparan UVB + emulgel ekstrak tomat 20%). Pada hari ke-6 dilakukan terminasi untuk pengambilan sampel jaringan kulit untuk menganalisis ekspresi SOD dan TNF- α melalui pemeriksaan *immunohistochemistry* (IHC).

Hasil: Ekstrak tomat yang digunakan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC50 sebesar 17,36 $\mu\text{g/ml}$ berdasarkan uji DPPH, yang memenuhi kriteria aktivitas antioksidan sangat kuat (IC50 < 50 $\mu\text{g/ml}$). Uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ($p = 0,041$), dan uji *MannWhitney* menemukan perbedaan signifikan antara K1 dengan K3 ($p = 0,037$) serta K2 dengan K3 ($p = 0,006$). Untuk TNF- α , tidak ditemukan perbedaan bermakna antar kelompok ($p = 0,104$).

Kesimpulan: Pemberian emulgel ekstrak tomat mampu meningkatkan ekspresi SOD pada kulit mencit yang dipapar UVB, namun tidak berpengaruh signifikan terhadap ekspresi TNF- α .

Kata Kunci: emulgel, ekstrak tomat, UVB, SOD, TNF- α ,

ABSTRACT

Background: Acute UVB radiation increases ROS, triggering oxidative stress in the skin. Tomatoes contain bioactive compounds such as lycopene, which act as antioxidants and anti-inflammatory agents. Tomato extract was formulated into an emulgel. This study aimed to evaluate the effect of tomato extract emulgel on the increase of SOD expression and the decrease of TNF- α expression in the skin of mice exposed to acute UVB.

Methods: This study employed a post-test only control group design. The research subjects were BALB/c mice, divided into four groups: K1 (normal control), K2 (negative control), K3 (UVB exposure + 10% tomato extract emulgel), and K4 (UVB exposure + 20% tomato extract emulgel). On the 6th day, SOD and TNF- α expression were measured using the immunohistochemistry (IHC) method.

Results: The tomato extract utilized exhibits significant antioxidant activity, with an IC50 value of 17.36 μ g/ml determined through the DPPH test. This value aligns with the criteria for very strong antioxidant activity, as it is below the threshold of 50 μ g/ml. The Kruskal-Wallis test showed significant differences between groups ($p = 0.041$), and the Mann-Whitney test found significant differences between K1 and K3 ($p = 0.037$) as well as K2 and K3 ($p = 0.006$). For TNF- α , no significant differences were found between the groups ($p = 0.104$).

Conclusion: The administration of tomato extract emulgel was able to increase SOD expression in the UVB-exposed skin of mice, but it did not significantly affect TNF- α expression.

Keywords: emulgel, tomato extract, UVB, SOD, TNF- α .

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Antioksidan adalah suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam kadar atau jumlah tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi. Antioksidan disebut juga sebagai senyawa pemberi elektron (elektron donor). Ada berbagai macam jenis antioksidan di alam ini. Antioksidan berfungsi untuk melindungi tubuh dari efek negatif radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan jaringan.¹

Antioksidan alami diperoleh dari berbagai sumber seperti tumbuhan, buah-buahan, dan sayuran, yang kaya akan senyawa bioaktif seperti flavonoid, karotenoid, dan polifenol. Antioksidan alami ini memberikan manfaat kesehatan dengan menangkal radikal bebas yang merusak sel-sel tubuh. Berdasarkan cara pemberiannya, antioksidan dapat digunakan secara topikal. Antioksidan topikal menjadi salah satu solusi untuk melawan stres oksidatif dan menjaga kesehatan kulit. Antioksidan topikal mampu melindungi kulit dari efek buruk lingkungan, seperti polusi dan radiasi sinar ultraviolet (UV).²

Paparan sinar ultraviolet B (UVB), yang berasal dari sinar matahari, merupakan salah satu faktor utama penyebab kerusakan kulit.^{11,12} Radiasi UVB dapat menembus epidermis hingga dermis bagian atas, meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS), dan memicu stres oksidatif. Selain UV, ancaman dari visible light (VL) dan infra merah (IR) juga tidak dapat diabaikan, karena keduanya dapat menyebabkan stres oksidatif.¹³ Stres

oksidatif ini dapat menyebabkan peningkatan molekul proinflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α), yang berkontribusi terhadap kerusakan DNA dan peradangan akut hingga kronis. Selain itu, UVB juga dapat menurunkan aktivitas enzim antioksidan tubuh seperti *Superoxide Dismutase* (SOD), yang berperan penting dalam menetralkan radikal bebas. Efek akut paparan UVB dapat berupa eritema, *sunburn*, hingga peningkatan risiko penuaan dini.

Penggunaan antioksidan alami sebagai perlindungan kulit semakin banyak dikembangkan, salah satunya adalah tomat (*Solanum lycopersicum* L.). Tomat dikenal kaya akan karotenoid (terutama likopen), flavonoid, dan vitamin C yang memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi serta mineral-mineral yang diperlukan tubuh.³ Likopen, sebagai komponen utama dalam tomat, memiliki kemampuan menangkap radikal bebas, melindungi sel dari kerusakan oksidatif, serta menghambat aktivasi *nuclear factor kappa B* (NF- κ B), sehingga dapat menekan ekspresi gen proinflamasi seperti TNF- α .^{5,6} Potensi ini menjadikan tomat sebagai kandidat bahan aktif untuk sediaan topikal yang berfungsi melindungi kulit dari kerusakan akibat radiasi UVB.

Pemilihan metode ekstraksi dan pelarut yang tepat menjadi salah satu tantangan utama dalam mengoptimalkan aktivitas antioksidan pada tomat. Likopen, sebagai komponen bioaktif utama, adalah senyawa lipofilik yang memiliki keterbatasan kelarutan dalam pelarut tertentu. Untuk menghasilkan ekstrak dengan kandungan likopen yang maksimal, diperlukan pendekatan yang mempertimbangkan sifat fisikokimia likopen serta senyawa aktif lainnya dalam tomat, seperti flavonoid dan vitamin C. Proses ekstraksi

diharapkan mampu menjamin pelepasan senyawa bioaktif ini secara optimal tanpa merusak struktur kimianya. Metode dan pelarut yang digunakan juga berperan penting dalam menentukan keberhasilan isolasi senyawa bioaktif, mengingat perbedaan polaritas dan stabilitas termal dari komponen-komponen yang terkandung dalam tomat. Dalam penelitian ini, metode ekstraksi yang diterapkan dipilih untuk memastikan bahwa senyawa bioaktif utama, termasuk likopen, dapat diisolasi dengan efisien. Proses ini dirancang untuk memaksimalkan aktivitas antioksidan dalam ekstrak, yang kemudian diformulasikan ke dalam sediaan topikal. Aktivitas antioksidan ekstrak perlu ditentukan melalui uji DPPH sehingga menghasilkan nilai IC50 yang menunjukkan kapasitas ekstrak dalam menangkap radikal bebas

Untuk memanfaatkan hasil ekstraksi ini, formulasi sediaan dalam bentuk emulgel dipilih. Emulgel menggabungkan sifat emulsi dan gel, memungkinkan penetrasi yang lebih baik untuk senyawa lipofilik, stabilitas formulasi, serta meningkatkan bioavailabilitas likopen.⁹ Selain itu, dalam emulgel, likopen dapat berkonversi dari isomer trans menjadi cis, bentuk yang lebih aktif secara biologis.^{9,10}

Meskipun likopen dalam tomat telah banyak diteliti, manfaatnya dalam formulasi emulgel sebagai agen fotoprotektif terhadap paparan UVB akut belum banyak dikaji. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh pemberian emulgel ekstrak tomat secara topikal terhadap ekspresi SOD dan TNF- α pada mencit yang dipapar UVB akut. Diharapkan, sediaan emulgel ini dapat memberikan perlindungan kulit yang

lebih efektif, mengurangi kerusakan oksidatif, serta memperlambat proses penuaan akibat paparan sinar UVB.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah pemberian emulgel ekstrak tomat (*Solanum Lycopersicum L.*) secara topikal berpengaruh terhadap peningkatan ekspresi SOD dan penurunan TNF- α pada mencit yang dipapar UVB akut?.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian emulgel ekstrak tomat secara topikal terhadap peningkatan ekspresi SOD dan penurunan ekspresi TNF- α pada mencit yang dipapar UVB akut.

1.3.2. Tujuan khusus

Tujuan khusus pada penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian emulgel ekstrak tomat 10% topikal terhadap peningkatan ekspresi SOD dan TNF- α .
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian emulgel ekstrak tomat 20% topikal terhadap peningkatan ekspresi SOD dan TNF- α .

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Dari hasil penelitian ini diharapkan diperoleh informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian emulgel ekstrak tomat terhadap ekspresi SOD dan TNF- α pada mencit balb/c betina yang dipapar sinar UVB akut.

1.4.2. Manfaat Praktis.

Sebagai informasi pada masyarakat tentang manfaat tomat sebagai antioksidan yang baik dan antiinflamasi yang dapat mencegah kerusakan sel kulit akibat paparan sinar UVB akut.

1.5. Originalitas Penelitian

Originalitas penelitian menyajikan perbedaan dan persamaan bidang kajian yang diteliti antara peneliti dengan peneliti-peneliti sebelumnya, untuk menghindari adanya pengulangan kajian terhadap hal-hal yang sama dapat dilihat dalam tabel 1.1 mengenai penelitian terdahulu berhubungan dengan tomat, SOD & TNF- α .

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian.

No.	Penulis dan tahun	Judul	Metode	Hasil Penelitian
1.	Poncojari Wahyono, Soetjipto, Harjanto, Suhariningsih, 2011. ¹⁸	Efek Jus Buah Tomat (<i>Lycopersicum pyriforme</i>) terhadap Pencegahan Fotoaging Kulit Akibat Iradiasi Sinar Ultraviolet-B	Penelitian eksperimental murni dengan menggunakan hewan coba tikus putih (Rattus norvegicus wistar).	Pemberian jus buah tomat pada dosis 11 g/kg BB mencegah kenaikan kadar MDA (sebagai indikator aktivitas ROS), ekspresi AP-1, dan mencegah penurunan ekspresi kolagen tipe-1 pada kulit yang diradiasi sinar UV-B 150 mJ/cm ² .
2.	J. Josephine, Candra, and A. Rahadiyanti, 2020. ¹⁹	A.Efek Ekstrak tomat (<i>SOLANUM LYCOPERSICUM</i>) terhadap Enzim Katalase Hepar Tikus Wistar yang terpapar minyak jelantah	Penelitian <i>true experimental</i> dengan <i>post test only group design</i> .	Pemberian 4mg/kgBB ekstrak buah tomat dapat meningkatkan dan mempertahankan kadar enzim katalase hepar pada tikus yang terpapar minyak jelantah.
3.	Zhang, X., Zhou, Q., Qi, Y., Chen, X., Deng, J., & Zhang, Y. (2023). ²⁰	The effect of tomato lycopene on clinical characteristics and molecular markers of UV-induced skin deterioration: A systematic review and meta-analysis of intervention trials.	Tinjauan Sistematis dan Meta-Analisis dari Eksperimen Intervensi Populasi.	Terdapat penurunan signifikan pada <i>MMP-1</i> (enzim yang terlibat dalam penuaan kulit), <i>ICAM-1</i> (molekul adhesi yang terkait dengan peradangan), dan pigmentasi kulit. Peningkatan signifikan dalam beberapa parameter lainnya, seperti <i>MED (Dosis Eritema Minimal)</i> , yang menunjukkan tingkat perlindungan kulit terhadap sinar UV), ketebalan kulit, dan kepadatan kulit.

4.	Stevani dhi, Febriyanti SuSari Widdhi ²¹ Julianri Lebang, 2021	Uji Efektivitas gel ekstrak buah tomat (<i>Solanum lycopersicum L.</i>) Terhadap luka sayat pada tikus putih jantan (<i>Rattus novergicus</i>)	Penelitian eksperimental dengan post test only desain	Uji One Way ANOVA menunjukkan adanya perbedaan signifikan lamanya penyembuhan luka sayat diantara 5 kelompok perlakuan. Paling efektif konsentrasi 16% dengan waktu penyembuhan selama 7 hari dibandingkan kontrol negatif dan konsentrasi 8%, 12%. Kesimpulan: sediaan gel 16% memiliki efektivitas baik terhadap penyembuhan luka sayat.
5.	Carolina B, Soegiharto GS, Evacuasiy E, 2018. ²²	Pengaruh Mengonsumsi Tomat Ceri (<i>Solanum lycopersicum L. var. cerasiforme</i>) Terhadap Indeks Gingiva	Penelitian Eksperimental	Rerata indeks gingiva setelah mengonsumsi tomat ceri (<i>Solanum lycopersicum L. var. cerasiforme</i>) pada hari ke-1 sebesar 0.35, pada hari ke-3 sebesar 0.25, dan pada hari ke-7 sebesar 0.12. Hasil nilai $p < 0.05$, terdapat perbedaan yang signifikan antara rata-rata indeks gingiva pada hari ke-1, 3,5 dan 7. Kesimpulan: mengonsumsi tomat ceri dapat menurunkan indeks gingiva

Dari uraian pada tabel 1.1, dapat disimpulkan bahwa belum ada penelitian yang secara khusus mengkaji pengaruh pemberian emulgel ekstrak tomat secara topikal terhadap ekspresi SOD dan TNF- α pada mencit yang dipapar UVB akut. Pada penelitian ini, formulasi yang digunakan adalah emulgel sebagai media topikal. Parameter yang dievaluasi adalah ekspresi SOD dan TNF- α . Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit *balb-c* yang dipapar UVB secara akut, berbeda dengan penelitian-penelitian sebelumnya yang umumnya menggunakan subjek tikus putih dan paparan kronis serta fokus pada pemberian sediaan oral.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. SOD (*Superoxide Dismutase*)

2.1.1. Pengertian SOD

SOD adalah salah satu enzim antioksidan endogen potensial dalam tubuh. SOD disebut juga metalloenzim karena mengandung atom tembaga (Cu), seng (Zn) atau besi (Fe) yang dibentuk dalam sitosol dan yang mengandung mangan (Mn) dibentuk didalam matrik mitokondria.^{17,23}

2.1.2. Peran SOD

SOD berperan sebagai garis pertahanan pertama melawan radikal bebas. SOD mengkatalisis dismutasi ion superoksida (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2). Hidrogen peroksida yang terbentuk selanjutnya dapat berdifusi melewati membran plasma dan kemudian diubah menjadi H_2O oleh dua enzim utama yaitu *catalase* (CAT) dan *glutathione peroxidase* (GPx).^{23,24}

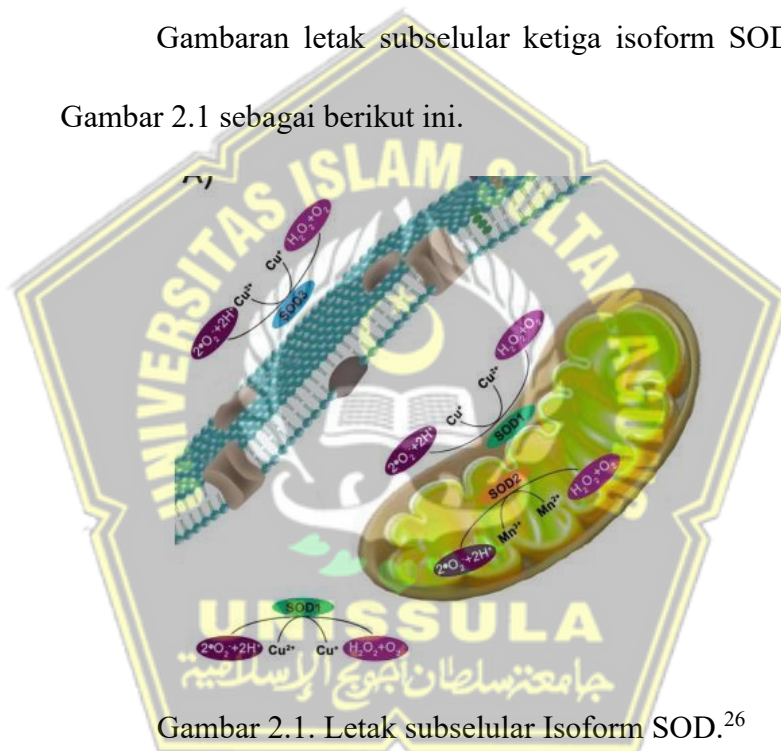
2.1.3. Jenis-Jenis SOD

Terdapat tiga jenis SOD utama:^{24,25}

1. SOD 1 (Cu, Zn-SOD): Terletak di sitosol dan ruang antar membran mitokondria. Berperan penting dalam melindungi tubuh dari radikal bebas dengan berat molekul sekitar 32.000 kDa.

2. SOD 2 (Mn-SOD): Tipe ini terdapat dalam mitokondria dan merupakan antioksidan utama dalam mencegah kerusakan oleh radikal bebas di sana, dengan ukuran sekitar 40.000 kDa.
3. SOD 3 : Diekspresikan di kompartemen ekstraseluler, membantu konversi anion superoksida (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2).

Gambaran letak subselular ketiga isoform SOD ditunjukkan pada Gambar 2.1 sebagai berikut ini.



Gambar 2.1. Letak subselular Isoform SOD.²⁶

2.1.4. Pengukuran kadar SOD

Pengukuran aktivitas SOD telah dilakukan dalam berbagai penelitian biomedis, baik in vivo maupun in vitro, untuk memahami perannya dalam pencegahan atau pengobatan berbagai penyakit.²² Spesimen yang dapat digunakan untuk mengukur SOD meliputi:²⁷

1. Sampel jaringan yaitu lisat sel dari jaringan tubuh tertentu.

2. Serum atau plasma, yaitu sampel darah yang umum digunakan dalam penelitian klinis.
3. Cairan tubuh lainnya, seperti cairan serebrospinal atau bronkoalveolar.

Pemeriksaan SOD dengan metode *immunohistochemistry* (IHC) memungkinkan deteksi sel-sel yang menghasilkan Cu,ZnSOD pada jaringan normal maupun neoplastik, yang bermanfaat dalam mempelajari profil antioksidan pada berbagai kondisi patofisiologis seperti stres dan diabetes mellitus. Observasi hasil IHC dapat dilakukan melalui metode kualitatif (mengamati intensitas warna), metode kuantitatif (mengukur reaksi positif pada inti sel), serta menghitung persentase inti sel dengan intensitas warna tertentu. Intensitas warna yang dihasilkan menunjukkan kadar Cu,Zn-SOD pada sel.²⁸

2.2. TNF- α (*Tumor Necrosis Factor-Alpha*). جامعنا

2.2.1. Pengertian TNF- α

TNF- α merupakan sitokin pro inflamasi dan pleiotropik yang sebagian besar diproduksi oleh makrofag, monosit, sel T, sel NK. TNF α juga diekspresikan pada tingkat yang lebih rendah oleh berbagai sel lain, termasuk fibroblas, keratinosit, sel otot polos, dan sel tumor.²⁹ Molekul TNF- α memiliki berat molekul 51kDa dan dibentuk oleh 212 asam amino homotrimers yang stabil. Terdapat dua bentuk TNF- α yaitu bentuk transmembran (tmTNF- α) dan bentuk terlarut (sTNF- α). Secara

umum, TNF- α bekerja dengan berikatan pada dua reseptor yang berbeda yaitu TNFR1 (p55) dan TNFR2 (p75), yang kemudian mentransmisikan sinyal molekuler untuk berbagai macam fungsi biologis, diantaranya menjadi reseptor pengatur respon kekebalan serta mampu menimbulkan efek seluler yang beragam termasuk apoptosis, nekroptosis, efek peradangan, efek proliferasi atau yang menginduksi pertumbuhan dan efek hematopoietik.²⁵⁻²⁷

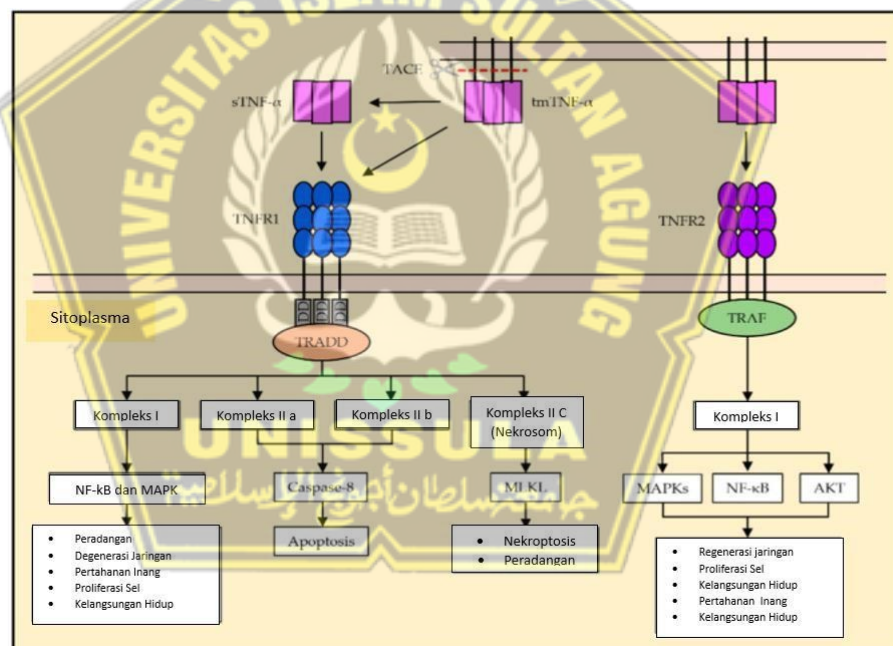
2.2.2. Aktivitas TNF- α .

Aktivitas TNF- α pada sistem imunologik adalah mengaktivasi sel limfosit T, serta meningkatkan ekspresi antigen MHC (*Major Histocompatibility Complex*) kelas 1 pada sel endotel dan fibroblast. Selain itu, TNF- α merupakan mediator utama yang berperan dalam proses peradangan dan juga sitotoksik bagi sel yang mengalami hambatan sintesis protein.³⁰ Secara fisiologis, TNF- α memiliki berbagai efek selain sebagai pro-inflamasi pada luka yaitu dapat memicu apoptosis sel dan berperan sebagai penghambat proses apoptosis.³¹ Hal ini disebabkan oleh kadar TNF- α yang dapat berpengaruh langsung pada sistem sel. Kadar TNF- α rendah (0.1-10 $\mu\text{g/ml}$) dapat menghambat apoptosis sel dengan menurunkan fragmentasi DNA sel. Sedangkan kadar TNF- α yang tinggi (100 $\mu\text{g/ml}$) dapat memicu apoptosis sel melalui jalur *Nuclear Faktor Kappa B* (NF- κB).³⁰

Efek dari TNF- α diinisiasi oleh ikatan sitokin terhadap reseptor yang menyebabkan aktivasi dari faktor utama transkripsi diantaranya

NF- κ B. Aktivasi tersebut kemudian menginduksi gen yang terlibat dalam respon inflamasi. Selain itu TNF- α juga dapat memicu apoptosis melalui ikatannya dengan *death* reseptor.³¹ Apoptosis melalui jalur ini melibatkan protein reseptor CD95 atau reseptor Fas (yang tergabung dalam TNF- α *receptor family*) beserta FAS Ligand yang disebut TRAIL (TNF- α *Receptor Apoptosis Inducing Ligand*). Keduanya membentuk jalur yang disebut *extrinsic pathway* atau *death receptor pathway*.³⁰

Aktivitas TNF- α dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 Jalur pensinyalan TNF- α .²⁴

Jalur pensinyalan umum TNF- α melalui TNFR1 dan TNFR2. Jalur pensinyalan TNFR1 diaktifkan oleh ligasi sTNF- α dan tmTNF- α , dan domain kematian TNFR1 merekrut TRADD. Kompleks I mengaktifkan NF- κ B dan MAPK, yang mengakibatkan peradangan, degenerasi jaringan, pertahanan host, proliferasi sel, dan kelangsungan hidup sel. Kompleks IIa dan IIb mengaktifkan caspase-8 dan menginduksi apoptosis. Kompleks IIc diketahui menginduksi nekroptosis dan peradangan melalui aktivasi MLKL. Jalur pensinyalan TNFR2

terutama diaktifkan oleh tmTNF- α . TNFR2 tidak memiliki domain kematian dan merekrut TRAF melalui domain TRAF-nya, yang mengaktifkan pembentukan kompleks I, yang mengakibatkan aktivasi NF- κ B dan MAPK serta AKT. Aktivasi TNFR2 dikaitkan dengan bioaktivitas homeostatis seperti regenerasi jaringan, proliferasi sel, dan kelangsungan hidup sel, serta pertahanan dan peradangan inang.

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi kadar TNF- α dalam tubuh baik internal maupun eksternal yaitu infeksi (bakteri, virus atau parasit) yang dapat merangsang produksi TNF- α oleh sel-sel imun dalam tubuh, usia, jenis kelamin, stres fisik atau emosional, diet tinggi lemak dan gula, obesitas, penyakit autoimun dan stress oksidatif.

2.3. Tomat (*Solanum Lycopersicum* L.)

Tomat yang ditunjukkan pada gambar 2.3, merupakan tanaman asli dari Amerika dan pertama kali dikenal pada tahun 1595, telah menyebar ke seluruh dunia, termasuk Eropa dan Indonesia, di mana ia menjadi komoditas sayuran yang penting. Di Indonesia, tomat merupakan tanaman berumur pendek yang dapat tumbuh di dataran rendah dan tinggi, selama kondisi tanah tidak terlalu basah.^{28,29}



Gambar 2.3. Tomat.²⁸

Tanaman tomat berdasarkan klasifikasinya termasuk :²⁸

Kingdom : Plantae
 Diviso : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Ordo : Solanales
 Famili : Solanaceae
 Genus : Solanum
 Spesies : *Solanum Lycopersicum* L.

2.3.1. Kandungan Nutrisi Tomat

Tomat kaya akan senyawa bioaktif yang memberikan manfaat kesehatan, terutama sebagai antioksidan yang kuat seperti flavonoid, vitamin C, dan likopen. Satu buah tomat mengandung sekitar 95% air, sementara sisanya terdiri dari karbohidrat, serat, serta senyawa aktif lainnya. Sebagian besar kandungan serat tomat, sekitar 87%, meliputi hemiselulosa, selulosa, dan lignin, yang penting dalam menjaga sistem pencernaan dan mengatur kadar kolesterol serta gula darah tubuh.

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang bersifat polar dan larut dalam pelarut seperti metanol dan etanol. Flavonoid dapat melawan radikal bebas dengan menyumbangkan atom hidrogen, sehingga berfungsi sebagai antioksidan. Struktur fenol pada flavonoid mudah teroksidasi dan peka terhadap panas, sehingga suhu tinggi dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan senyawa ini.^{30,31}

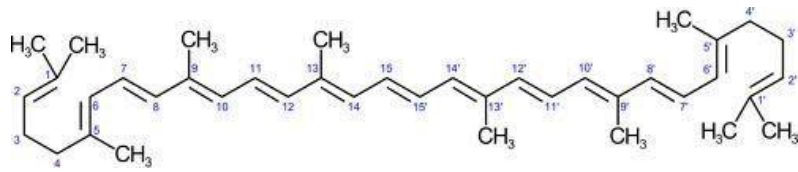
Vitamin C adalah antioksidan yang berperan sebagai donor elektron dan mencegah oksidasi senyawa lain. Senyawa ini larut dalam

air, bersifat asam, dan sangat reaktif dalam menetralkan radikal bebas, seperti anion superoksida dan radikal hidroksil. Bersama dengan vitamin E, vitamin C bekerja sinergis dalam menangkal radikal bebas dan menurunkan stres oksidatif dalam tubuh.³¹

Tabel 2.1. Kandungan nutrisi dalam 100g buah tomat segar.²⁸

Kandungan	Jumlah
Water %	93.5
Protein (g)	0.9
Fat (g)	0.1
Calories	23
Carbohydrates (g)	3.3
Fiber (g)	0.8
Phosphorus (mg)	19
Calcium (mg)	7
Iron (mg)	0.7
Vitamin A(UI)	1.1
Vitamin B1(mg)	0.05
Vitamin B2(mg)	0.02
Vitamin C(mg)	20
Niacin(mg)	0.6

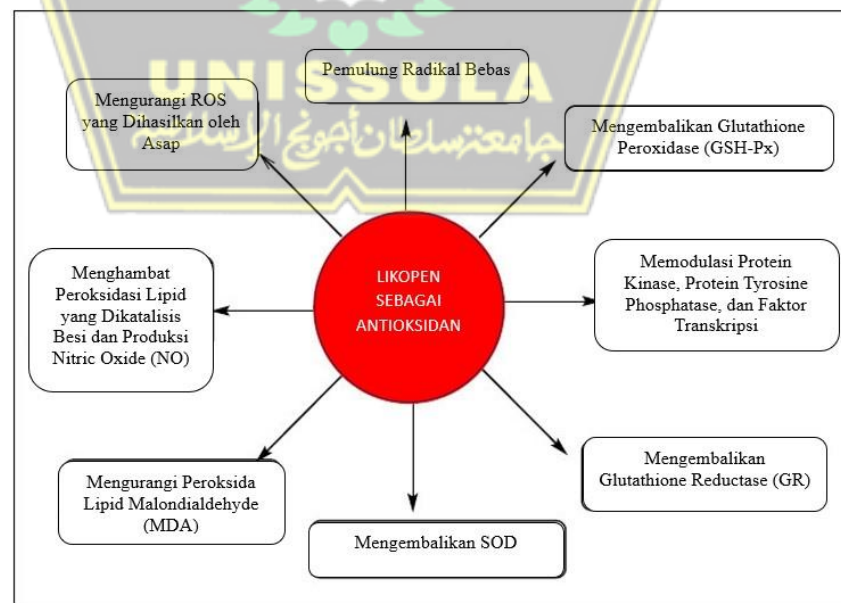
Likopen merupakan senyawa karotenoid asiklik dengan struktur $C_{40}H_{56}$ yang mengandung 13 ikatan rangkap, 11 di antaranya terkonjugasi (ilustrasi pada gambar 2.4). Berat molekulnya adalah 536,873 g/mol dengan titik leleh 172–173°C. Struktur likopen memungkinkan penyerapannya terhadap cahaya dengan panjang gelombang tinggi, yang memberi warna merah cerah khas. Likopen larut dalam pelarut organik seperti kloroform, benzena, dan n-heksana tetapi mudah terdegradasi akibat paparan cahaya, oksigen, suhu tinggi, dan proses pengolahan seperti pengeringan dan penyimpanan.



Gambar 2.4. Struktur kimia likopen.³⁴

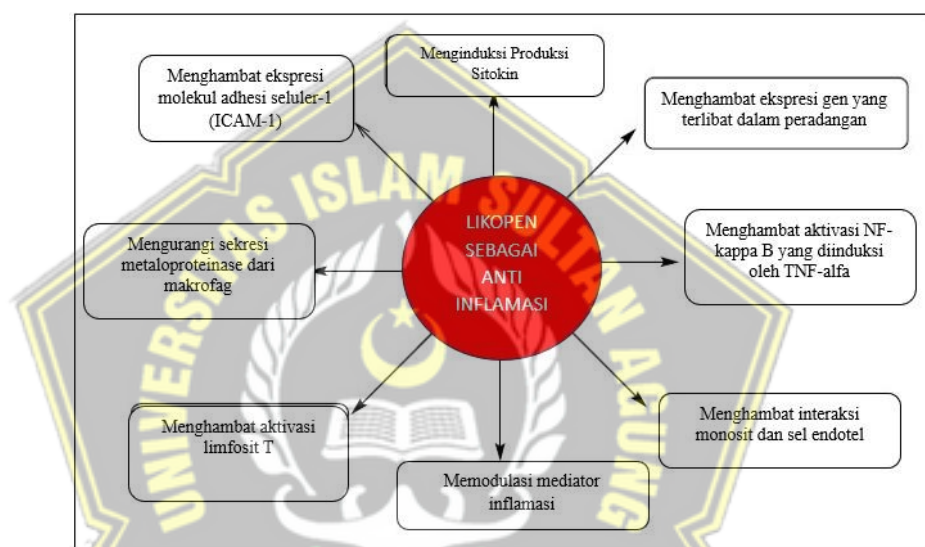
Likopen di alam terdapat dalam bentuk all-trans, tetapi dapat berubah menjadi isomer cis yang lebih stabil dan lebih mudah masuk ke dalam sel. Ketika teroksidasi, ikatan ganda pada likopen akan terpecah, menghasilkan molekul lebih kecil yang kehilangan warna khasnya. Ini menunjukkan peran likopen dalam menyerap energi dari radikal bebas, sehingga mencegah kerusakan sel dan penuaan dini.^{33,34}

Sebagai antioksidan, likopen sangat efisien dalam menetralkan radikal bebas, dengan efektivitas yang dikatakan 100 kali lebih tinggi dari vitamin E dan 12500 kali dari pada glutathion.³²



Gambar. 2.5Aktivitas antioksidan likopen.³⁰

Likopen memiliki aktivitas antioksidan melalui kemampuannya untuk menangkap radikal bebas, yang dijelaskan dalam gambar 2.5. Struktur terkonjugasi pada likopen memungkinkan kemampuannya dalam menangkap radikal bebas seperti singlet oksigen dan peroksida. Sebagai antioksidan, likopen sangat efisien dalam menetralkan radikal bebas, dengan efektivitas yang dikatakan 100 kali lebih tinggi dari vitamin E.³⁰



Gambar. 2.6 Aktivitas Antiinflamasi Likopen.³⁰

Mekanisme likopen bekerja sebagai antiinflamasi dapat dilihat pada gambar 2.6.³⁰

Dalam mekanisme antiinflamasi, likopen menghambat ekspresi molekul adhesi seperti ICAM-1 dan VCAM-1 yang memainkan peran penting dalam proses inflamasi pada pembuluh darah. Di samping itu, likopen mengurangi aktivasi yang dipicu oleh TNF- α , dimana NF- κ B ini adalah faktor transkripsi utama yang mengatur ekspresi berbagai gen inflamasi. Likopen juga berfungsi menurunkan interaksi antara

monosit dan sel endotel, yang secara klinis mengurangi risiko pembentukan plak serta peradangan vaskular.³⁰

Secara klinis, penelitian menunjukkan bahwa likopen berpotensi mengurangi stres oksidatif pada pasien yang menjalani terapi kanker kolorektal. Selain itu, likopen diketahui mampu menekan produksi prostaglandin inflamasi melalui penghambatan enzim COX-2 serta menekan aktivasi T-limfosit, yang merupakan komponen penting dalam respons imun dan inflamasi.³⁵

Selain vitamin dan senyawa bioaktif lain, tomat juga memiliki kandungan mineral yang signifikan, meliputi elemen mayor seperti kalsium (Ca), kalium (K), natrium (Na), fosfor (P), magnesium (Mg), sulfur (S), dan klorin (Cl), yang diperlukan dalam jumlah yang lebih besar untuk mendukung berbagai fungsi fisiologis. Di samping itu, tomat juga mengandung elemen jejak seperti besi (Fe), yodium (I), zinc (Zn), fluorin (F), tembaga (Cu), selenium (Se), dan mangan (Mn), yang meskipun dibutuhkan dalam jumlah kecil, memiliki peran krusial dalam berbagai proses biokimia (tabel 2.2).³⁶

Tabel 2.2 Kandungan mineral dalam tomat.³⁶

Kandungan	Satuan	Konsentrasi	Rentang
Sodium (Na)	mg/100 g	70.38 ± 12.20	56.90–80.65
Potassium (K)	mg/100 g	403.02 ± 254.41	16.63–1097.00
Calcium (Ca)	mg/100 g	105.21 ± 22.76	48.47–162.07
Magnesium (Mg)	mg/100 g	172.58 ± 58.92	76.87–265.93
Phosphorus (P)	mg/100 g	300.99 ± 32.12	173.00–379.31
Chlorine (Cl)	µg/100 g	517.24 ± 0.00	517.24
Boron (B)	µg/g	36.83 ± 3.27	25.84–48.59
Nickel (Ni)	mg/100 g	0.66 ± 0.00	0.66
Nitrate (NO ₃ ⁻)	mg/100 g	274.37 ± 156.75	86.21–459.00
Iron (Fe)	mg/100 g	4.55 ± 2.18	1.50–6.45
Zinc (Zn)	mg/100 g	2.48 ± 1.05	0.17–3.17
Cobalt (Co)	mg/100 g	19.66 ± 9.66	10.00–29.31
Copper (Cu)	mg/100 g	0.67 ± 0.15	0.06–1.10
Manganese (Mn)	mg/100 g	0.60 ± 0.12	0.11–1.88
Chromium (Cr)	µg/100 g	193.80 ± 133.80	60.00–327.59
Iodine (I)	mg/100 g	2.65 ± 1.44	0.18–3.97
Fluorine (F)	µg/100 g	413.79 ± 0.00	413.79
Aluminum (Al)	µg/100 g	1241.38 ± 0.00	1241.38
Silicon (Si)	µg/100 g	46.55 ± 0.00	46.55
Selenium (Se)	µg/100 g	13.45 ± 3.45	10.00–16.90
Lead (Pb)	µg/g	1.21 ± 0.06	1.15–1.27
Cadmium (Cd)	µg/g	0.17 ± 0.06	0.11–0.22
Arsenic (As)	µg/g	0.20 ± 0.005	0.19–0.20

2.4. Paparan Akut Ultraviolet B (UVB)

2.4.1. Ultraviolet B (UVB)

Ultraviolet B (UVB) merupakan suatu radiasi elektromagnetik yang mempunyai panjang gelombang berkisar dari 290-320 nanometer (gambar 2.7).³ Pancaran UVB yang mencapai bumi berkisar antara 1-10% dari total radiasi elektromagnetik yang dipancarkan matahari. Sinar UVB yang mencapai kulit, direfleksikan sebanyak 70% oleh lapisan tanduk (stratum korneum) dan terpenetrasi sebanyak 30% ke dalam epidermis. Sinar UVB yang terpenetrasi sebagian terabsorpsi oleh keratinosit dan melanin, dan 10% mencapai bagian atas dermis.²

Radiasi UVB dalam jumlah kecil bermanfaat untuk sintesis

Vitamin D dalam tubuh atau aplikasi dalam kombinasi dengan obat

dalam terapi penyakit seperti psoriasis dan vitiligo, tetapi paparan yang berlebihan dapat menimbulkan berbagai permasalahan kulit. Sinar UVB juga dapat menyebabkan kerusakan fotokimia pada DNA atau *photodamage* sehingga memicu pertumbuhan kanker kulit.⁴

UVB 1000-10000 lebih karsinogenik dibanding UVA. UVB kurang bersifat fotokimia tetapi dapat menembus jaringan. Sinar UVB diserap secara langsung oleh DNA dan menyebabkan perubahan molekuler dengan pembentukan fotoproduk spesifik seperti *cyclobutane dimer* dan 6-4 fotoproduk.⁴



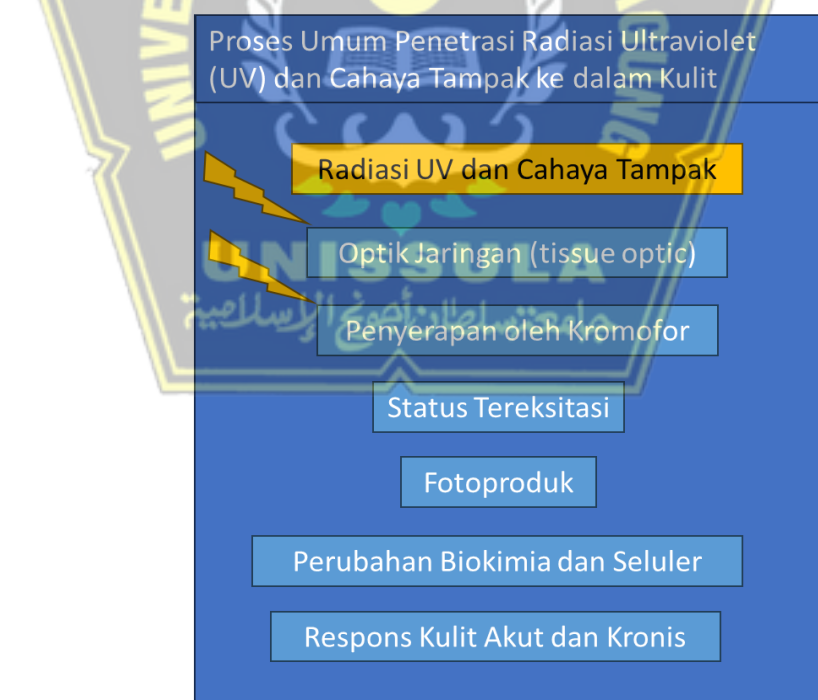
Gambar 2.7. Radiasi Ultraviolet.³⁷

Kedalaman penetrasi radiasi ultraviolet (UV) (UVR). UVC, dengan panjang gelombang terpendek (100–290 nm) dan energi tertinggi, sebagian besar diblokir oleh lapisan ozon dan jarang mencapai kulit manusia. Sebaliknya, baik UVB maupun UVA dapat menembus lapisan ozon. UVA, dengan panjang gelombang terpanjang (320–400 nm) dan energi terendah, dapat mencapai jauh ke dalam dermis, sedangkan UVB (panjang gelombang: 290–320 nm) sebagian besar mencapai permukaan dermis.

2.4.2. Efek Paparan Akut UVB Terhadap Kulit.^{2,3}

Efek akut sinar UV merupakan efek yang terjadi sesaat hingga beberapa minggu pasca radiasi sinar UV. Radiasi sinar UV akan

menembus lapisan kulit tertentu dan akan diabsorpsi oleh molekul yang disebut kromofor. Kromofor merupakan molekul target yang menangkap energi foton sinar UV dan akan menginisiasi terjadinya respon fotobiologi. Kromofor terdiri dari DNA, melanin, asam urokanik, asam amino aromatik, membrane lipid, *7dehydrocholesterol*, flavin, profirin beserta prekursor dan metabolitnya. Di dalam kromofor akan terjadi proses pembentukan molekul baru yang disebut *photoproducts*. *Photoproducts* akan menstimulasi jalur transduksi sinyal seluler hingga terjadi respon perubahan biokimiawi yang menyebabkan terjadinya proliferasi, sekresi sitokin, dan apoptosis sebagai respon akut kulit. (Gambar 2.8)



Gambar 2.8 Skema perjalanan radiasi sinar UV pada permukaan kulit hingga menimbulkan berbagai respon klinis.²

Kromofor yang paling rentan terhadap UV adalah DNA nukleus.

Rangkuman efek molekuler dan seluler serta perubahan secara klinis kulit terhadap paparan sinar UV disajikan dalam tabel 2.3.

Tabel 2.3 Respon Normal kulit terhadap radiasi UV terbagi menjadi akut dan kronis tergantung dari waktu paparan.²

	Akut	Kronis
Molekular/Selular	Klinis	Klinis
Kerusakan DNA akibat sinar (dan perbaikannya) dan mutasi	Kemerahan	Kanker kulit
Produksi melanin	Pencoklatan kulit tertunda	Penuaan dini kulit
Peradangan, penebalan lapisan kulit	Pencoklatan kulit segera	
Radikal bebas merusak DNA dan membran sel	Pencoklatan kulit yang menetap	
Kematian sel (sel sunburn)	Penekanan sistem kekebalan tubuh	
Penurunan sel Langerhans	Peningkatan sistem kekebalan tubuh bawaan	
Ekspresi gen dan protein	Penurunan tekanan darah (oleh sinar UVA)	
Sintesis vitamin D		

DNA yang menyerap foton UV akan membentuk dimer pirimidin (lesi dipirimidin), disebabkan adanya pemisahan ikatan ganda pasangan basa C5=C6 dan membentuk ikatan kovalen baru yang mengisi posisi C5 dan C6. Pemisahan ikatan ini akan membentuk rantai *4carbon-cylobutane*, sehingga perubahan ini disebut dengan *cylobutane pyrimidine dimer* (CPD). Perubahan lainnya yaitu 6-4 pyrimidinepyrimidone (6-4 PP), di mana ketika ikatan C5=C6 terputus, terbentuk energi surplus yang menyebabkan rotasi salah satu rantai pirimidin sehingga ikatan C6 akan berikatan kovalen dengan C4 membentuk rantai yang baru.

Paparan radiasi sinar UV di kulit menimbulkan banyak respon seluler, dan yang paling utama terjadi adalah terbentuknya *sunburn cell* (SBC) epidermal dengan inti sel piknotik dan sitoplasma eosinofilik. SBC merupakan sel keratinosit yang mengalami apoptosis pasca irradiasi sinar UV, terutama UVB. Proses apoptosis keratinosit ini diregulasi oleh ekspresi gen p53 melalui jalur Bcl2 dan memicu reseptor kematian sel FAS (CD95 dan APO-1) yang bertugas untuk mengeliminasi keratinosit yang mengalami kerusakan DNA.

Perubahan seluler lainnya juga terjadi pada sel Langerhans (LC), di mana pada area yang terpapar radiasi UV akan mengalami kehilangan sel Langerhans diikuti dengan terjadinya spongiosis epidermal disertai vasodilatasi, infiltrasi netrofil dan limfosit CD3+.

Eritem atau kemerahan pada kulit merupakan reaksi inflamasi yang timbul pasca radiasi UV, bisa terjadi 6 hingga 24 jam pasca paparan dan lambat laun menghilang. *Eritema* ini sering kali juga disertai dengan tanda peradangan yang lain seperti nyeri, pembengkakan dan perabaan kulit yang hangat. Reaksi ini lebih sering disebut dengan *sunburn*.

Pada radiasi sinar UVB, foton yang diabsorpsi oleh DNA sel-sel keratinosit epidermis dan menghasilkan *photoproducts* yang menginduksi produksi sitokin dan mediator pro-inflamasi. Jalur sinyal NF- κ B memediasi sintesis sitokin seperti IL-6, IL-8 dan TNF- α . Selsel keratinosit yang mengalami kerusakan DNA ini yang disebut dengan *sunburn cells* (SBC). Fotoproduk UVB, triptofan, akan memicu

ekspresi *cyclooxygenase-2* (COX-2) yang berperan dalam katalase pembentukan prostaglandin.

2.5. Sediaan Topikal Emulgel

2.5.1. Sediaan Topikal^{12,13}

Sistem penghantaran obat topikal umumnya digunakan untuk mencapai efek lokal pada kulit, baik untuk keperluan kosmetik maupun dermatologis. Sistem ini biasanya diterapkan pada kulit yang sehat maupun yang bermasalah, seperti eksim, jerawat, dan psoriasis. Selain efek lokal, formulasi topikal juga dapat memberikan efek sistemik melalui penghantaran transdermal. Keuntungan dari penghantaran obat topikal termasuk menghindari metabolisme lintas pertama di hati, mencegah degradasi obat di lambung, mengurangi frekuensi dosis, meningkatkan kepatuhan pasien, dan memudahkan pengobatan sendiri. Formulasi topikal dapat berupa padat, semi padat, dan cair, seperti bubuk, krim, salep, losion, dan emulsi.

2.5.2 Perkembangan Sediaan Topikal Emulgel^{12,13,37}

Sediaan topikal telah mengalami perkembangan yang signifikan, dengan upaya terus-menerus untuk meningkatkan stabilitas formulasi dan efektivitas penghantaran obat. Sebelumnya, krim adalah salah satu sediaan yang tersedia namun sering menghadapi tantangan utama terkait stabilitas, terutama pada perubahan suhu. Krim cenderung mengalami penurunan viskositas

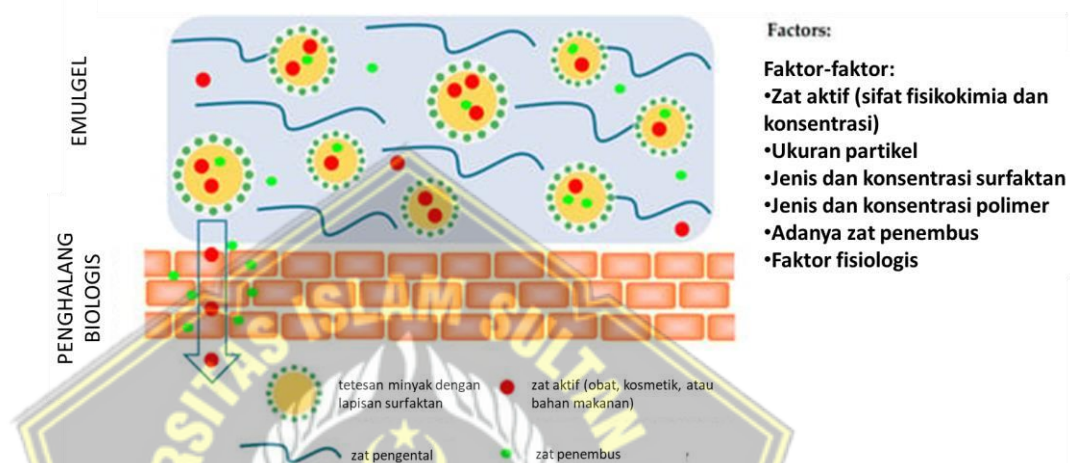
saat suhu meningkat, menyebabkan pemisahan fase, penggumpalan, dan koalesensi yang mengakibatkan kerusakan formulasi dan degradasi bahan aktif.

Dalam mengatasi masalah stabilitas ini, formulasi emulgel muncul sebagai solusi yang efektif. Emulgel adalah sistem heterogen yang terdiri dari dua fase cair yang tidak dapat bercampur, di mana satu fase terdispersi dalam bentuk tetesan di fase lainnya, berfungsi sebagai reservoir yang membawa zat aktif. Komposisi emulgel hendaknya tidak beracun, tidak mengiritasi, tidak menyebabkan sensitivitas, dan tidak komedogenik. Emulgel dikembangkan dengan struktur polimer gel yang tidak memungkinkan fase emulsi terpisah, menjaga stabilitas formulasi bahkan pada suhu tinggi. Karakteristik ini membuat emulgel menjadi pilihan yang lebih disukai karena mampu menyajikan formulasi tanpa masalah fisik yang tidak diinginkan, seperti perubahan tampilan yang dapat mengganggu konsumen.

Keunggulan emulgel yaitu kemudahan penggunaan dan kenyamanan bagi pengguna, dapat mengontrol viskositasnya dengan lebih baik, mencegah penyebaran yang berlebihan pada kulit setelah aplikasi, dan kompatibel dengan obat-obat baik yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik.

2.5.3. Formulasi Emulgel.¹³

Persyaratan utama untuk formulasi emulgel adalah pemilihan fase minyak, pengemulsi, dan agen pembentuk gel yang tepat seperti yang ditunjukkan gambar 2.9.

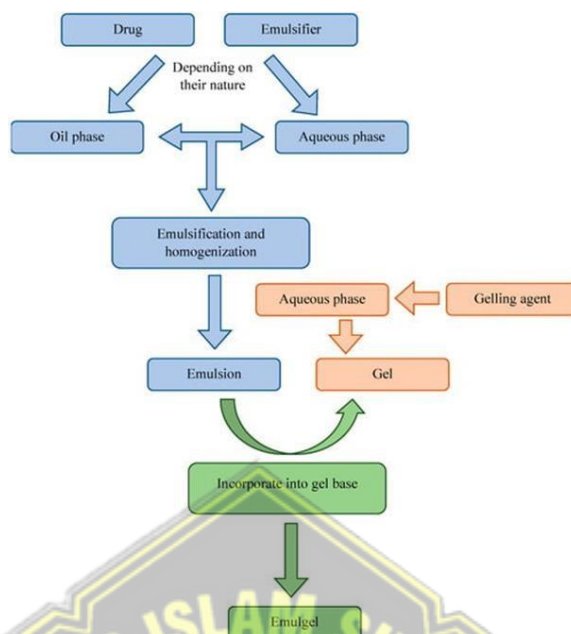


Gambar 2.9. Faktor-faktor yang mempengaruhi pelepasan zat aktif dari formulasi emulgel dan permeasinya.¹³

Pelepasan terkendali dan penghantaran obat tertarget dapat dicapai melalui mekanisme pelepasan terkendali ganda, karena adanya sistem emulsi dan gel. Selain karakteristik fisikokimia zat aktif (berat molekul, kelarutan, koefisien partisi, dll.) dan faktor fisiologis (sifat penghalang biologis, seperti ketebalan membran, pH, aliran darah, dll.), faktor formulasi juga terbukti sangat memengaruhi pelepasan dan pengangkutan zat aktif melalui membran. Ukuran partikel sistem koloid (misalnya, emulsi dalam emulgel) memiliki peran penting dalam memengaruhi profil pelepasan zat yang terkandung di dalam partikel, dengan ukuran yang lebih kecil meningkatkan jumlah zat aktif yang dilepaskan dan menembus kulit. Surfaktan, yang digunakan untuk mendispersi dan mengemulsi satu fase dalam fase lain, memengaruhi

pelepasan obat melalui efeknya pada ukuran tetesan minyak tetapi juga pada struktur partikel lipid. Polimer yang digunakan sebagai agen pembentuk gel dalam emulgel meningkatkan stabilitas fisik emulsi dengan meningkatkan viskositas fase kontinyu, sehingga secara langsung memberikan pelepasan zat aktif yang lebih lambat. Peningkatan pemuatan obat dalam formulasi mempercepat laju pelepasan, serta adanya peningkatan penetrasi dalam emulgel.

Ada beberapa metode preparasi untuk gel emulsi. Secara umum, preparasi emulgel sederhana dan melibatkan tiga langkah utama (Gambar 2.10). Emulsi dan gel preparasi secara terpisah dan dicampur bersama di bagian akhir. Oleh karena itu, langkah pertama adalah preparasi emulsi, minyak dalam air atau air dalam minyak, dengan preparasi fase minyak dan fase air secara terpisah dan mencampurnya bersama. Langkah ini meliputi pemanasan fase dan penggabungan obat biasanya ke dalam fase internal emulsi sebagaimana diperlukan. Zat ditambahkan ke dalam fase tertentu tergantung pada sifatnya, seperti zat hidrofobik ditambahkan ke dalam fase minyak dan zat hidrofilik ditambahkan ke dalam fase air. Setelah preparasi emulsi, gel dibuat dengan menambahkan agen pembentuk gel ke dalam air. Langkah ketiga dan terakhir adalah pencampuran dan homogenisasi emulsi dan gel.



Gambar 2.10. Langkah-langkah persiapan emulgel.¹³

2.6. Penentuan Aktivitas Antioksidan.

Metode yang dapat digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan tomat adalah metode DPPH (1,1diphenyl-2-picrylhydrazyl).^{41,42} Pengujian ini didasarkan pada kemampuan zat dalam menangkap radikal bebas 1,1diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Sampel yang diuji aktivitas antioksidannya direaksikan dengan larutan DPPH dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum 517 nm. Mekanisme penangkap radikal bebas menggunakan metode dimana antioksidan mendonorkan elektron valensi ke radikal DPPH, sehingga semua elektron radikal DPPH berpasangan membentuk molekul yang stabil. Selain mekanisme tersebut, mekanisme eliminasi radikal DPPH juga dapat dilakukan oleh donor radikal hidrogen dengan bantuan antioksidan. Dengan bereaksi dengan antioksidan, jumlah DPPH dalam larutan berkurang

sehingga terjadi penurunan (pelemahan) nilai penyerapan DPPH. Larutan DPPH berwarna ungu dan kuning pucat bila direduksi. Berdasarkan hubungan antara konsentrasi antioksidan dan persentase reduksi radikal DPPH, aktivitas antioksidan dapat ditentukan dengan menentukan nilai IC₅₀. IC₅₀ atau ***Inhibitory Concentration 50 %*** menunjukkan jumlah konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat aktivitas radikal bebas sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀, maka semakin besar aktivitas antioksidannya.. Kriteria potensi antioksidan dapat dilihat pada tabel 2.4

Tabel 2.4 Kategori IC 50

No.	IC 50 (µg/mL)	Aktivitas Antioksidan
1.	< 50	Sangat Kuat
2.	50-100	Kuat
3.	101-150	Sedang
4.	> 150	Lemah

Analisis pengujian antioksidan metode DPPH dilakukan dengan melihat perubahan warna masing-masing sampel setelah diinkubasi bersama DPPH. Jika semua elektron DPPH berpasangan dengan eletron pada sampel granul efervesen maka akan terjadi perubahan sampel dimulai dari ungu hingga kuning terang. Kemudian sampel diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV- vis pada panjang gelombang 517 nm. Kemudian dari absorbansi tersebut dilakukan perhitungan persentase peredaman dengan rumus:

$$\% \text{ peredaman} = \frac{\text{absorbansi DPPH} - \text{absorbansi sampel uji}}{\text{absorbansi DPPH}} \times 100\%$$

Dari nilai persentase peredaman pada masing-masing konsentrasi, selanjutnya dibuat kurva regresi, sehingga didapatkan persamaan $y = bx + a$ dan akan diperoleh nilai IC50 dengan perhitungan secara regresi linier dimana konsentrasi sampel (ppm) sebagai akssis (sumbu x) dan nilai persentase peredaman sebagai ordinatnya (sumbu y). Nilai IC50 didapatkan dari perhitungan persen peredaman sebesar 50%.⁴³

2.9 Pengaruh emulgel ekstrak tomat topikal terhadap kadar SOD dan TNF- α pada mencit yang dipapar UVB akut.

Tomat (*Solanum Lycopersicum L.*) merupakan suatu bahan alami yang telah diteliti memiliki kandungan antioksidan. Penelitian yang dilakukan oleh Ismalia & Zuraida pada tahun 2016 menunjukkan bahwa likopen, yang merupakan senyawa antioksidan utama dalam tomat, memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas radikal bebas. Likopen ini dikenal dapat memperlambat, menunda, bahkan mencegah oksidasi lipid, yang merupakan proses utama dalam kerusakan sel oleh radikal bebas.

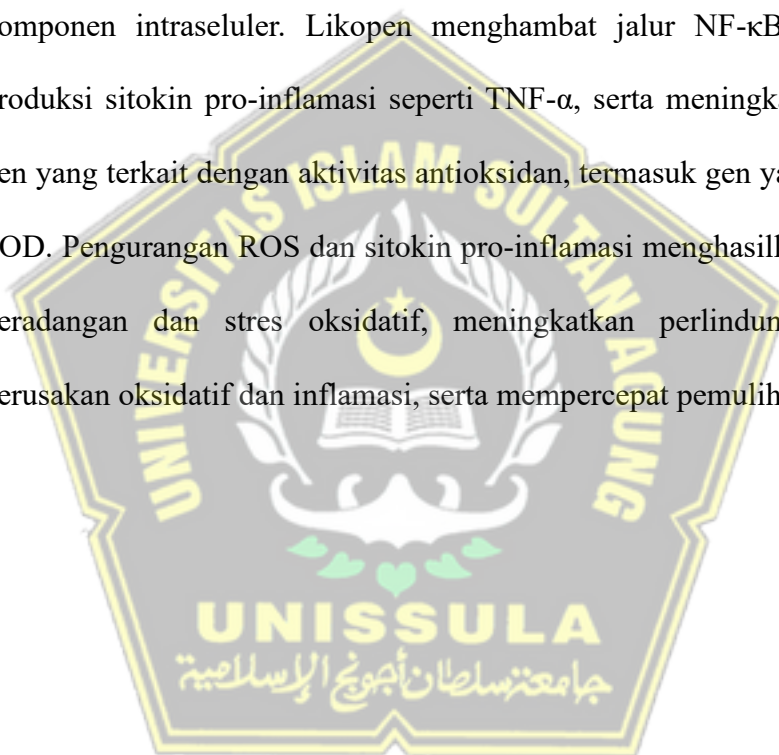
Emulgel adalah sistem heterogen yang terdiri dari dua fase cair yang tidak dapat bercampur, di mana satu fase terdispersi dalam bentuk tetesan di fase lainnya, berfungsi sebagai reservoir yang membawa zat aktif. Keunggulan emulgel yaitu kemudahan penggunaan dan kenyamanan bagi pengguna, dapat mengontrol viskositasnya dengan lebih baik, mencegah penyebaran yang berlebihan pada kulit setelah aplikasi, dan kompatibel dengan obat-obat baik yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik.³⁸

Pengaruh emulgel ekstrak tomat topikal terhadap SOD dan TNF- α pada mencit yang dipapar sinar UVB akut diduga melalui mekanisme molekuler yang melibatkan aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi likopen. Paparan sinar UVB menyebabkan stres oksidatif pada kulit dengan menghasilkan sejumlah besar spesies oksigen reaktif (ROS) seperti superoksida ($O_2^{\bullet-}$). SOD adalah enzim yang mengkatalisis dismutasi superoksida menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2), yang merupakan langkah penting dalam pertahanan sel terhadap kerusakan oksidatif. Ekstrak tomat kaya akan likopen, sebuah antioksidan kuat yang mampu menangkal ROS. Likopen mengandung ikatan rangkap terkonjugasi yang dapat menangkap elektron dari ROS, sehingga menetralkan radikal bebas dan mengurangi stres oksidatif. Dengan mengurangi jumlah ROS, likopen dalam ekstrak tomat membantu mempertahankan atau meningkatkan aktivitas SOD, sehingga kulit yang dipapar UVB yang diolesi emulgel ekstrak tomat diduga menunjukkan peningkatan kadar SOD dibandingkan dengan kulit yang tidak diobati.

Selain itu, paparan sinar UVB juga merangsang respon inflamasi di kulit, yang melibatkan peningkatan produksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α .⁴⁰ TNF- α berperan penting dalam mediasi inflamasi dan dapat menyebabkan kerusakan seluler lebih lanjut. Likopen diduga menghambat jalur NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), yang merupakan jalur sinyal utama yang mengatur ekspresi gen proinflamasi, termasuk TNF- α . Dengan menghambat aktivasi NF- κ B, likopen diharapkan dapat menurunkan produksi TNF- α , sehingga mengurangi peradangan pada

kulit yang dipapar UVB, membantu mengurangi kerusakan jaringan dan mempercepat proses penyembuhan.

Setelah aplikasi topikal, emulgel ekstrak tomat menembus lapisan kulit, mencapai area yang terpapar UVB. Likopen dan komponen aktif lainnya mulai berinteraksi dengan sel-sel kulit, menangkap ROS yang dihasilkan oleh paparan UVB, mencegah kerusakan oksidatif pada sel-sel kulit dan komponen intraseluler. Likopen menghambat jalur NF- κ B, mengurangi produksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , serta meningkatkan ekspresi gen yang terkait dengan aktivitas antioksidan, termasuk gen yang mengkode SOD. Pengurangan ROS dan sitokin pro-inflamasi menghasilkan penurunan peradangan dan stres oksidatif, meningkatkan perlindungan terhadap kerusakan oksidatif dan inflamasi, serta mempercepat pemulihan kulit.



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori

Paparan sinar UVB akut dapat menimbulkan efek akut. Efek akut sinar UV merupakan efek yang terjadi sesaat hingga beberapa minggu pasca radiasi sinar UV.

Pada radiasi UVB, foton akan diabsorpsi oleh DNA sel-sel keratinosit epidermis dan menghasilkan fotoproduk yang menginduksi produksi sitokin dan mediator pro-inflamasi, seperti TNF- α . Sel-sel keratinosit yang mengalami kerusakan DNA ini yang disebut dengan *sunburn cells* (SBC). Fotoproduk UVB, triptofan, akan memicu ekspresi *cyclooxygenase-2* (COX2) yang berperan dalam katalase pembentukan prostaglandin. Selain itu, pembentukan ROS akibat radiasi sinar UVB yang menyebabkan oksidasi pada membran lipid pada akhirnya juga akan memicu pembentukan sitokin proinflamasi. Proses tersebut dapat menimbulkan reaksi inflamasi berupa eritem atau kemerahan yang dapat terjadi 6 hingga 24 jam pasca paparan UVB dan lambat laun menghilang. Namun eritem ini dapat disertai dengan munculnya tanda inflamasi lain seperti pembengkakkan (tumor), nyeri (dolor), hangat (kalor) yang disebut dengan *sunburn*.

Ultraviolet B memicu produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS), yang mengaktifkan keratinosit untuk menyatakan faktor transkripsi yaitu Nuklir Faktor *kappa B* (NF- κ B) dan *Activator Protein-1* (AP-1). Agar produksi ROS tidak berlebihan dan proses oksidasi ini tidak berlanjut ke tahap kronis, maka

diperlukan kehadiran antioksidan. Antioksidan endogen salah satunya adalah *Superoxide Dismutase* (SOD). SOD adalah enzim antioksidan yang bertanggung jawab untuk menetralkan superoksida menjadi hidrogen peroksid.

Pembentukan ROS yang terus menerus disertai dengan ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dan antioksidan endogen seperti *Superoxide Dismutase* (SOD) akan mengakibatkan stress oksidasi.² ROS merupakan bagian dari hasil metabolisme sel normal atau sel yang terpapar zat-zat lain yang menyebabkan terjadinya inflamasi atau peradangan. ROS terdiri dari Superoksida (O_2^-), Hidroksil (OH), peroksil (ROO), Hidrogen Peroksida (H_2O_2), singlet Oksigen (1O_2), *Nitric Oxide* (NO \cdot), Peroksinitrit (ONOO $^-$), Asam Hipoklorit (HOCl), dan hasil oksidasi lemak pada makanan. Radikal bebas yang paling banyak terbentuk di dalam tubuh adalah superoksida. Superoksida ini akan diubah menjadi Hidrogen Peroksida (H_2O_2). Hidrogen ini dalam tahap propagasi akan diubah menjadi radikal Hidroksil ($\cdot OH$). Radikal Hidroksil inilah yang menyebabkan terjadinya peroksidasi lemak pada membran sel sehingga sel mengalami kerusakan.

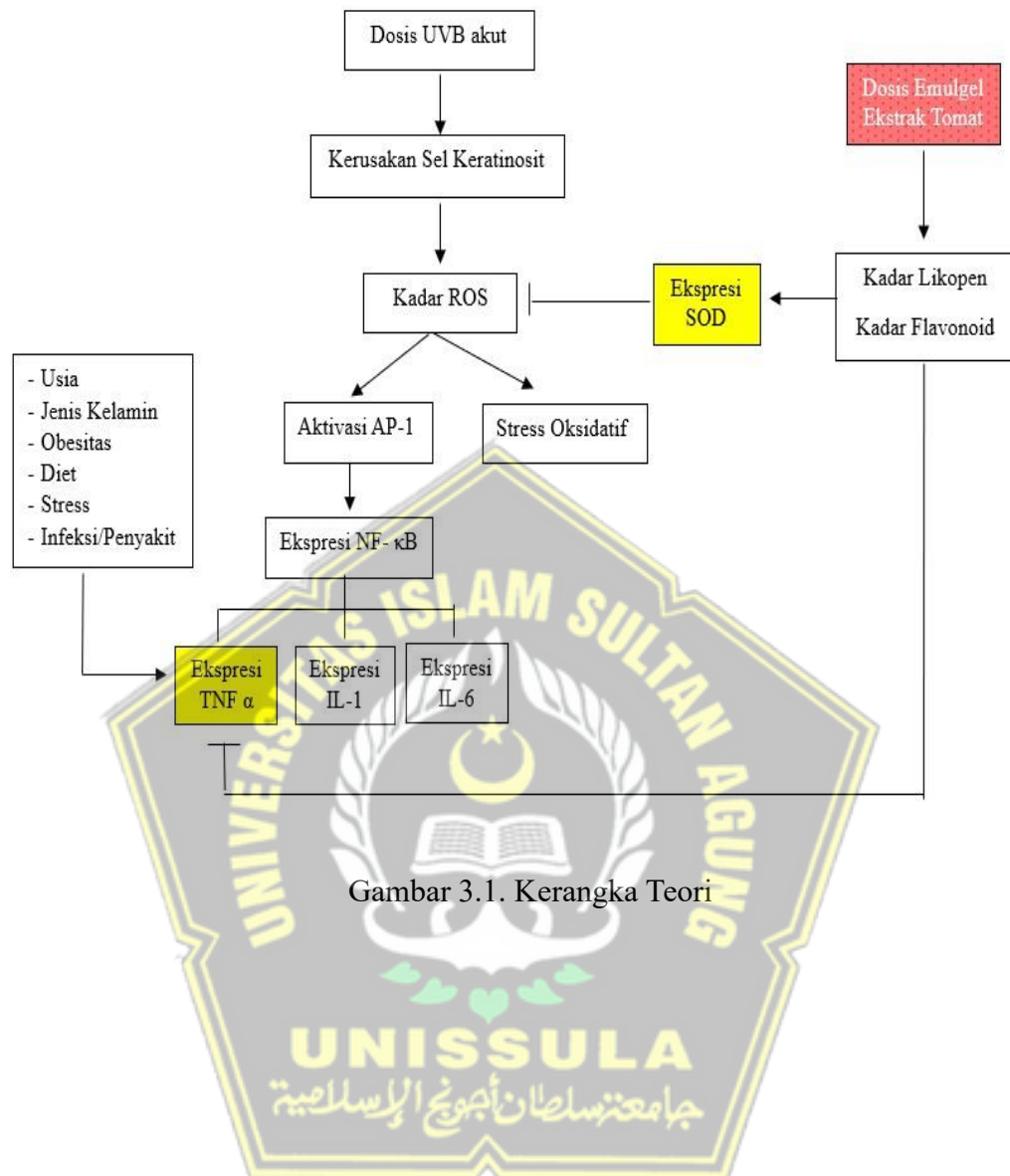
Perlindungan antioksidan melalui peningkatan aktivitas SOD dan penurunan kadar TNF- α dapat membantu melindungi kulit dari kerusakan yang disebabkan oleh paparan sinar UVB.

Antioksidan dapat menghambat dan menetralkan terjadinya reaksi oksidasi yang melibatkan radikal-radikal bebas. Mekanisme hambatan dari

antioksidan biasanya terjadi pada saat reaksi-reaksi inisiasi atau propagasi pada reaksi oksidasi lemak atau molekul lainnya di dalam tubuh dengan cara menyerap dan menetralsir radikal bebas atau mendekomposisi peroksida. Netralisir ini dilakukan dengan cara memberikan satu elektronnya sehingga menjadi senyawa yang lebih stabil atau terjadi reaksi terminasi dan reaksi-reaksi radikal berakhir atau stres oksidatif tidak terjadi pada sel. Disamping mencegah atau menghambat terjadinya stres oksidatif dan kerusakan jaringan sel, antioksidan berperan penting dalam menghambat peningkatan produksi sitokin seperti *Interleukin-6* (Il-6) atau *Tumor Necrosis Factor* (TNF- α) yang merupakan sitokin proinflamasi atau peradangan.²

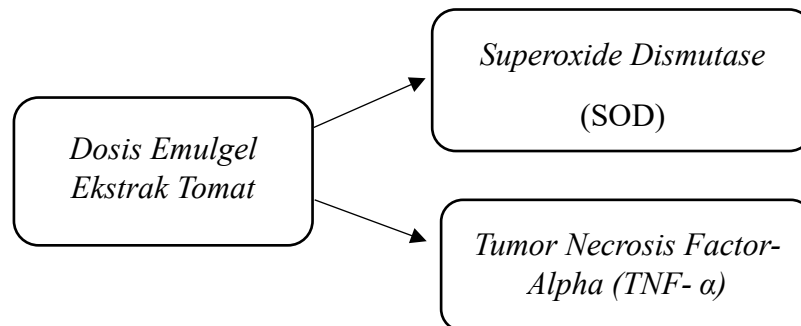
Likopen, yang merupakan komponen utama dalam ekstrak tomat, memiliki sifat antioksidan yang dapat melindungi sel-sel kulit dari kerusakan oksidatif. Hal ini dapat dilakukan dengan meningkatkan aktivitas SOD, yang mengurangi jumlah superoksida yang dapat merusak sel-sel kulit. Selain itu, likopen juga dapat mengurangi kadar TNF- α , menunjukkan efektivitasnya dalam mengurangi kerusakan oksidatif.

Penggunaan emulgel ekstrak tomat sebagai bentuk pemberian topikal dapat meningkatkan efisiensi penyerapan dan penyebaran ekstrak tomat pada kulit yang terkena paparan sinar UVB. Hal ini memungkinkan ekstrak tomat untuk bekerja secara langsung pada area yang terkena paparan sinar UVB, memberikan perlindungan antioksidan yang lebih kuat secara lokal.



Gambar 3.1. Kerangka Teori

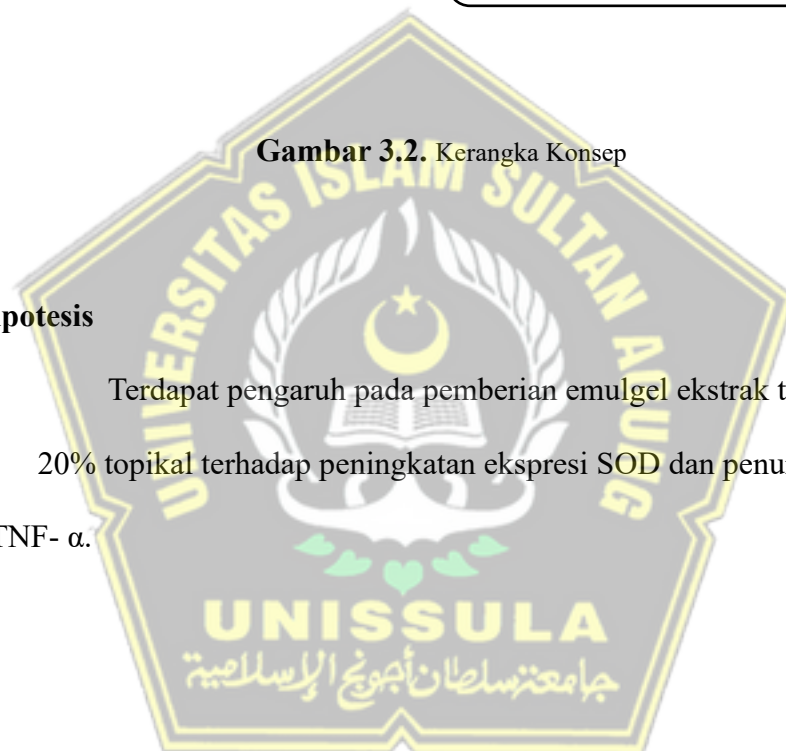
3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

Terdapat pengaruh pada pemberian emulgel ekstrak tomat 10% dan 20% topikal terhadap peningkatan ekspresi SOD dan penurunan ekspresi TNF- α .



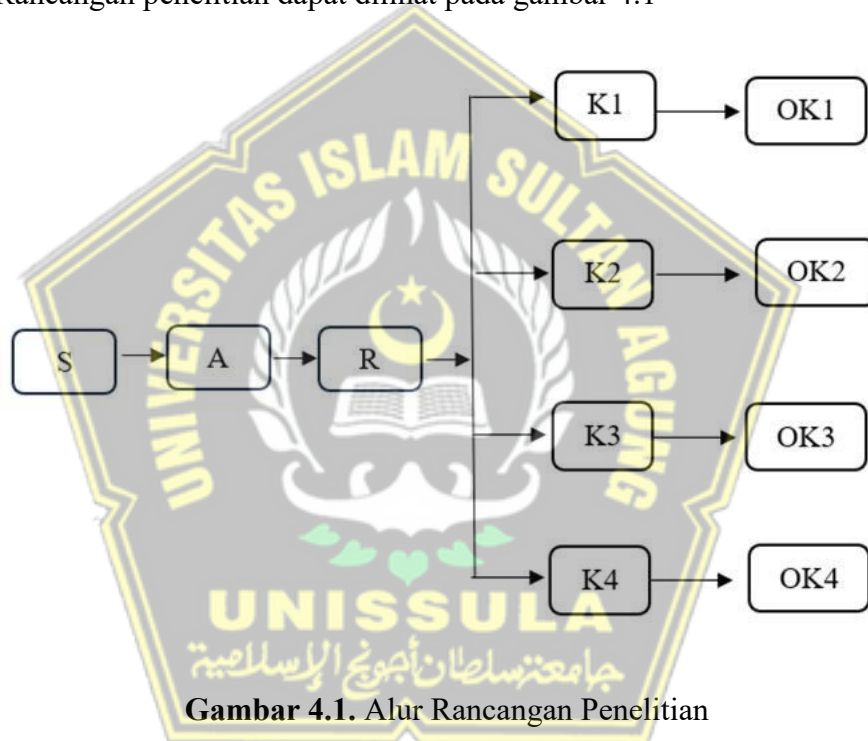
BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental *in vivo* dengan *post-test only control group design* dengan hewan coba mencit.

Rancangan penelitian dapat dilihat pada gambar 4.1



Gambar 4.1. Alur Rancangan Penelitian

Keterangan:

S : Sampel

A : Adaptasi

R : Randomisasi menjadi 4 kelompok

K1 : Kelompok mencit yang diberi pakan standar tanpa paparan sinar UVB akut (kontrol normal).

K2 : Kelompok mencit yang diberi paparan sinar UVB akut 360 mJ/cm² selama 9 menit kemudian dioleskan basis emugel (plasebo) sebanyak 0,3 gr, selama 5 hari (kontrol negatif).

K3 : Kelompok mencit yang diberi paparan sinar UVB 360 mJ/cm² selama 9 menit kemudian dioleskan emulgel ekstrak tomat (EET) 10% sebanyak 0,3 gram selama 5 hari

K4 : Kelompok mencit yang diberi paparan sinar UVB 360 mJ/cm² selama 9 menit kemudian dioleskan emulgel ekstrak tomat (EET) 20% sebanyak 0,3 gram selama 5 hari.

OK1 : Observasi/ Kelompok 1

OK2 : Observasi Kelompok 2

OK3 : Observasi Kelompok 3

OK4 : Observasi Kelompok 4

4.2. Subjek dan Sampel Penelitian

4.2.1. Subjek Penelitian

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit balb/c betina berusia 12 minggu dengan berat 25-30 gram, yang diperoleh dari *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL) Fakultas Kedokteran Unissula Semarang. Sebelum memulai penelitian, mencit diadaptasikan selama 7 hari. Mencit dipelihara dalam kandang dengan ventilasi cukup, dengan suhu ruangan 28-32⁰ C, diberi makan dan minum.

4.2.2. Sampel Penelitian

4.2.2.1. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Mencit kondisi sehat

b. Berat badan antara 25-30 gr

c. Berumur 12 minggu

4.2.2.2. Kriteria *Drop Out*

Mencit terkena infeksi atau mati selama perlakuan penelitian.

4.2.3. Besar Sampel Penelitian

Besar sampel yang diperlukan dalam penelitian ini menggunakan rumus sampel eksperimental dari *Federer*, dengan

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

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

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$N \geq 6$$

Keterangan: t = jumlah kelompok = 4
 n = banyaknya sampel setiap perlakuan

Dari rumus di atas didapatkan besar sampel untuk tiap kelompok perlakuan minimal 6 ekor mencit. Total sampel pada penelitian ini berjumlah 24 ekor mencit yang dibagi dalam 4 kelompok. Masing-masing kelompok berjumlah 6 ekor. Pengambilan sampel dilakukan 1 kali pada hari ke-8 dengan cara randomisasi.

4.2.4. Cara Penentuan Sampel Penelitian

Pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan cara *Randomized Sampling*. Mencit BALB/c yang memenuhi kriteria

untuk penelitian sejumlah 24 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok secara random, setiap kelompok terdiri atas 6 ekor mencit.

4.3. Variabel dan Definisi Operasional

4.3.1. Variabel

- a. Variabel bebas : Emulgel ekstrak tomat dosis 10 % dan 20%.
- b. Variabel terikat : Ekspresi SOD dan ekspresi TNF- α .

4.3.2. Definisi Operasional Variabel.

1. Emulgel Ekstrak Tomat (EET)

Emulgel ekstrak tomat (EET) adalah sediaan emulgel yang mengandung ekstrak tomat, yang diekstraksi menggunakan campuran pelarut yaitu etanol dan etil asetat dengan rasio 1:1. Sediaan emulgel dibuat dalam dua dosis yaitu 10% dan 20%.⁴³ EET dioleskan di punggung mencit sebanyak 0,3 gr/hari, selama 5 hari setelah paparan UVB akut. Tomat yang digunakan berasal dari salah satu perkebunan di daerah Bandungan, Semarang.

Skala : Rasio

2. Ekspresi *Superoxyde Dismutase* (SOD)

Ekspresi SOD adalah SOD yang diekspresikan pada jaringan kulit sampel mencit setelah perlakuan. Ekspresi SOD didapat dengan analisis sampel jaringan kulit yang diambil pada hari ke-6.

Ekspresi SOD diperiksa dengan metode IHC (*Immunohistochemistry*) menggunakan kit antibodi SOD *mice* pAb merk *abclonal*. Penilaian ekspresi SOD dilakukan dengan mikroskop CX-23 pembesaran 200x pada seluruh lapang pandang (sel kulit yang terpapar UVB) kemudian persentase dihitung dari sel-sel keratinosit yang berwarna coklat pada sitoplasma dibandingkan dengan seluruh sel keratinosit. Sel yang terekspresi kuat ditunjukkan dengan warna coklat tua pada sitoplasma, terekspresi sedang berwarna coklat keemasan (kekuning-kuningan), terekspresi lemah berwarna coklat muda dan terekspresi negatif berwarna biru. Satuan ekspresi SOD dihitung dari jumlah sel positif dibandingkan dengan seluruh sel dan dikali 100%.

Unit: Persen Ekspresi

Skala : Rasio

3. Ekspresi TNF- α

Ekspresi TNF- α adalah TNF- α yang terkandung pada jaringan kulit sampel mencit setelah perlakuan. Ekspresi TNF- α diperiksa dengan metode IHC (*Immunohistochemistry*) menggunakan kit antibodi TNF- α *mice* pAb merk *abclonal*. Penilaian ekspresi TNF- α dilakukan dengan mikroskop CX-23 pembesaran 200x pada seluruh lapang pandang (sel kulit yang terpapar UVB) kemudian persentase dihitung dari sel-sel keratinosit yang berwarna coklat pada sitoplasma dibandingkan dengan seluruh sel keratinosit. Sel

yang terekspresi kuat ditunjukkan dengan warna coklat tua pada sitoplasma, terekspresi sedang berwarna coklat keemasan (kekuning-kuningan), terekspresi lemah berwarna coklat muda dan terekspresi negatif berwarna biru. Satuan ekspresi TNF- α dihitung dari jumlah sel positif dibandingkan dengan seluruh sel dan dikali 100%. Unit : Persen Ekspresi

Skala : Rasio

4.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

4.4.1. Instrumen Penelitian.

Penelitian ini menggunakan beberapa peralatan yaitu UVB light merk *Light Bources* FS 72T12-UVB-HO, berbentuk TL, UV *Radiatoon*, model SPC-4A), pisau cukur, kandang paparan, kandang pemeliharaan, tempat air minum menciit. Alat-alat gelas (Pyrex[®], mortar dan stamper, Blender, cawan porselen, neraca analitik, pot 100 ml, batang pengaduk, thermometer, pH meter, wadah maserasi, corong kaca, sendok tanduk, seperangkat rotary evaporator, alat daya lekat, alat daya sebar, dan ruang pengering. Alat yang digunakan untuk pengumpulan data adalah pemotong jaringan (mikroton), alat penyimpan slide, penjepit slide, botol penyimpanan, mikroskop, kamera mikroskop, komputer dan perangkat lunak analisis gambar.

4.4.2. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan terdiri dari buah tomat segar dan bewarna merah, pelarut campuran yaitu etanol 96% dan etil asetat, reagen Carr Preece (Sbcl₃), larutan DPPH, parafin cair, span 20, tween 20, propilen glikol, metil paraben, air suling, karbopol 940, trietanolamin, IHC KIT SOD, IHC kit TNF- α , dan sampel jaringan kulit mencit.

4.5 Cara Penelitian

4.5.1. Perolehan *Ethical Clearence*

Ethical Clearance penelitian ini diajukan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

4.5.2. Cara Membuat Ekstrak Tomat

Tomat merah matang dipotong-potong. Setelah dipotong, tomat dikeringkan menggunakan lemari pengering. Setelah proses pengeringan selesai, tomat yang telah kering dihaluskan menjadi serbuk menggunakan blender. Selanjutnya, dilakukan proses maserasi dengan merendam serbuk tomat dalam campuran pelarut etanol 96% dan etil asetat dengan perbandingan 1:1 selama tiga hari.⁴³ Setelah pemisahan filtrat pertama, remaserasi dilakukan dengan pelarut yang sama untuk memastikan tidak ada senyawa penting yang tertinggal. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *Rotary Evaporator* pada suhu 50°C untuk menguapkan pelarut. Akhirnya, hasil dari proses evaporasi dipanaskan

lagi menggunakan water bath pada suhu 50°C untuk memastikan tidak ada pelarut yang tersisa.

4.5.3. Skrining likopen⁴⁰

Identifikasi senyawa likopen dilakukan dengan menimbang sampel sebanyak 1 gram, lalu teteskan sampel kedalam plat tetes sebanyak 3 tetes dan ditambahkan reagen *Carr Price* (SbCl₃ dalam kloroform) sebanyak 2-3 tetes dan diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil positifnya ditandai dengan terbentuknya warna merah jingga atau biru kecokelatan pada larutan setelah penambahan SbCl₃.

4.5.4. Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) untuk mengukur kemampuan ekstrak tomat dalam menetralkan radikal bebas. Pengukuran dilakukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang 517 nm, yang merupakan panjang gelombang maksimal untuk deteksi DPPH.

Selanjutnya, nilai IC₅₀ dihitung dengan membuat plot kurva dosis respon berdasarkan persentase inhibisi terhadap konsentrasi ekstrak tomat. Nilai

IC₅₀ diperoleh melalui analisis regresi non-linear, yang memberikan gambaran tentang konsentrasi ekstrak yang diperlukan untuk mengurangi setengah dari radikal bebas yang terdeteksi.^{42,44}

4.5.5. Cara Membuat Emulgel Ekstrak Tomat.

Massa gel dibuat dengan mendispersikan HPMC (*Hydroxypropyl Methylcellulose*) sedikit demi sedikit dalam air panas dengan suhu 80°C, didiamkan selama 20-30 menit hingga HPMC mengembang lalu digerus sampai terbentuk basis gel. Metil paraben dan propil paraben dilarutkan dalam propilenglikol, lalu dicampur dengan basis gel. Ekstrak tomat ditambahkan sedikit demi sedikit sambil digerus hingga homogen (Campuran 1). Massa emulsi dibuat dengan memanaskan campuran fase minyak dan fase air secara terpisah pada suhu 70°C. Selanjutnya kedua fase tersebut dimasukkan bersamaan ke dalam lumpang yang telah berisi campuran 1. Gerus ± 45 menit hingga homogen dan terbentuk massa emulgel.

Tabel 4.1. Formula Basis Emulgel.⁴⁶

Bahan	Formula (%)	Fungsi
HPMC	6,5	Basis gel
Parafin Cair	5	Emolien
Tween 80	1,08	Pengemulsi
Propil Paraben	0,02	Pengawet
Metil Paraben	0,18	Pengawet
Propilenglikol	10	Humektan
Aquadest	Ad 100	Pelarut

Tabel 4.2. Formula emulgel yang dibuat

Bahan	Konsentrasi (%)		
	F0 (Plasebo)	F1 (10%)	F2 (20%)
Ekstrak Tomat (gram)	-	2	4
Basis emulgel (gram)	20	18	16

4.5.6. Penetapan dosis.

Dosis pemberian gel ekstrak tomat secara topikal ditentukan sebelum penelitian dilakukan berdasarkan studi literatur. Penelitian yang dilakukan oleh Ilmiyah Setiani (2023) menyatakan bahwa dosis 10% ekstrak buah tomat bersifat *photoprotection*.⁴⁴ Pada penelitian Swastika et al (2013) didapat semakin tinggi konsentrasi sediaan, aktivitas antioksidannya bersifat kuat yang ditunjukkan dengan nilai $IC_{50} < 50$.⁴⁵ Berdasarkan penelitian tersebut, maka penelitian ini menggunakan dosis EET 10% dan 20% yang dioles secara topikal pada kulit mencit yang dipapar sinar UVB.

4.5.7. Penyinaran UV B dan perlakuan

1. Mencit diadaptasi selama 7 hari.
2. Mencit pada bagian dorsal dicukur hingga bersih dengan ukuran 2x3 cm.
3. Perlakuan dibagi menjadi 4 kelompok dan masing-masing terdiri dari 6 sampel:

Kelompok K1: Mencit sehat yang mendapatkan pakan standar

(tidak diberikan paparan apapun)

Kelompok K2: Kelompok kontrol negatif, yaitu mencit yang

dipapar dosis UVB akut 360 mJ/cm² selama 9 menit dengan jarak 30 cm. Lalu dilanjutkan dengan pemberian basis emulgel secara topikal 1 kali. Perlakuan dilakukan selama 5 hari. Setiap harinya sebelum dipapar, punggung mencit

dibersihkan dahulu dengan menggunakan tissue basah untuk membersihkan sisa emulgel.

Kelompok K3: Kelompok perlakuan 1, yaitu mencit yang dipapar dosis UVB akut 360 mJ/cm² selama 9 menit dengan jarak 30 cm. Lalu dilanjutkan dengan pemberian emulgel ekstrak tomat 10% secara topikal 1 kali. Perlakuan dilakukan selama 5 hari. Setiap harinya sebelum dipapar, punggung mencit dibersihkan dahulu dengan menggunakan tissue basah untuk membersihkan sisa emulgel.

Kelompok K4: Kelompok perlakuan 2, yaitu mencit yang dipapar dosis UVB akut 360 mJ/cm² selama 9 menit dengan jarak 30 cm. Lalu dilanjutkan dengan pemberian emulgel ekstrak tomat 20% secara topikal 1 kali. Perlakuan dilakukan selama 5 hari.

Setiap harinya sebelum dipapar, punggung mencit dibersihkan dahulu dengan menggunakan tissue basah untuk membersihkan sisa emulgel.

4.5.8. Pengambilan Sampel Jaringan Untuk Pemeriksaan IHC

Mencit pada hari ke 6 diterminasi menggunakan cairan kloroform yang telah dibasahi pada kapas, kemudian dimasukkan ke dalam wadah tertutup. Selanjutnya diambil sampel jaringan dengan cara diseksi pada bagian punggung dengan ukuran 2x2 cm sampai

subkutan ketebalan kira-kira 2 mm. Segera setelahnya dilakukan fiksasi jaringan untuk menjaga struktur jaringan. Jaringan kulit kemudian dimasukkan dalam tabung berisi cairan buffer formalin 10% dan diberi label sesuai dengan kelompok dan urutannya.

4.5.9. Prosedur Pemeriksaan IHC SOD dan TNF- α .⁴⁷

I. Prosesing Jaringan.

1. Jaringan hasil biopsi/operasi terlebih dahulu difiksasi dengan menggunakan larutan formalin buffer selama 8 - 48 jam.
2. Potongan jaringan dimasukkan ke dalam cassette tissue, kemudian direndam dalam alkohol 50% selama semalam.
3. Jaringan dipindahkan dan direndam dalam alkohol 70% selama 1 jam.
4. Jaringan dipindahkan dan direndam dalam alkohol 80% selama 1 jam.
5. Jaringan dipindahkan dan direndam dalam alkohol 95% I selama 1 jam.
6. Jaringan dipindahkan dan direndam dalam alkohol 95% II selama 2 jam.
7. Jaringan dipindahkan dan direndam dalam xylol I selama 1 jam.
8. Jaringan dipindahkan dan direndam dalam xylol II selama 1 jam.

9. Jaringan ditiriskan, kemudian dilakukan proses embedding dengan cara direndam dalam paraffin cair pada suhu 58°C dalam inkubator selama 1 malam.
10. Blok paraffin kemudian dibuat.

II. Prosesing blok parafin.

Prosedur dimulai dengan memotong blok parafin menjadi ketebalan 4-5 mikron, kemudian diletakkan pada obyek glass. Selanjutnya, obyek glass tersebut dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 58°C selama 20 menit. Setelah itu, sampel direndam dalam xylol I selama 5 menit, diikuti dengan xylol II, xylol III, dan xylol IV, masing-masing juga selama 5 menit. Proses dilanjutkan dengan merendam sampel dalam alkohol absolut selama 5 menit, kemudian dalam alkohol 95% dan alkohol 70%, masing-masing selama 5 menit. Akhirnya, sampel dicuci dengan aquadest selama 5 menit untuk memastikan penghilangan sisa-sisa bahan pelarut.

III. Pengecatan IHC SOD dan TNF- α

1. Pemotongan blok parafin dengan tebal 4-5 mikron. Diletakkan pada slides poly-L-lysine selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 malam (agar lebih merekat pada slides).
2. Proses deparafinisasi dilakukan dengan merendam sampel dalam xylol I selama 5 menit, diikuti dengan xylol II, xylol III, dan xylol

IV masing-masing selama 5 menit. Setelah itu, sampel direndam dalam alkohol absolut selama 5 menit, kemudian dalam alkohol 95% dan alkohol 70%, masing-masing juga selama 5 menit. Terakhir, sampel dicuci dengan aquadest selama 5 menit untuk menghilangkan sisa-sisa bahan pelarut. Cuci dengan air mengalir selama 5 menit.

4. Cuci lagi dengan aquadest selama 5 menit. Cuci dengan PBS selama 2 X 5 menit.
5. Retrieval antigen dilakukan pada microwave oven dengan Tris EDTA pH 9 pada suhu 90°C selama 3 menit kemudian dilanjutkan pada suhu rendah ± 15 menit.
6. Setelah dingin cuci dengan PBS selama 2 X 5 menit. Tetesi dengan endogenous peroksidase metanol H₂O₂ 3% selama 20 menit. Cuci dengan air mengalir selama 5 menit Tetesi dengan bloking serum selama 10 menit. Tiriskan, kemudian tetesi dengan antibodi primer yang telah disiapkan. Untuk SOD menggunakan kit antibodi SOD mice pAb merk abclonal dan TNF- α menggunakan kit antibodi TNF- α mice pAb merk abclonal. Inkubasi pada suhu 40C selama 18 jam.
7. Cuci dengan PBS selama 2 X 5 menit. Tetesi dengan Trekkie Universal Link selama 15 menit. Cuci dengan PBS selama 2 X 5 menit. Tetesi dengan TrekAvidin-HRP Label selama 10 menit. Cuci dengan PBS selama 2 X 5 menit. Pemberian substrat enzim peroksidase : DAB selama 3-5 menit. Cuci dengan air mengalir

selama 10 menit. Tetesi dengan hematoxylin selama 4 menit .Cuci dengan air mengalir selama 10 menit. Mounting, tutup dengan deckglass. Preparat untuk IHC siap diamati.

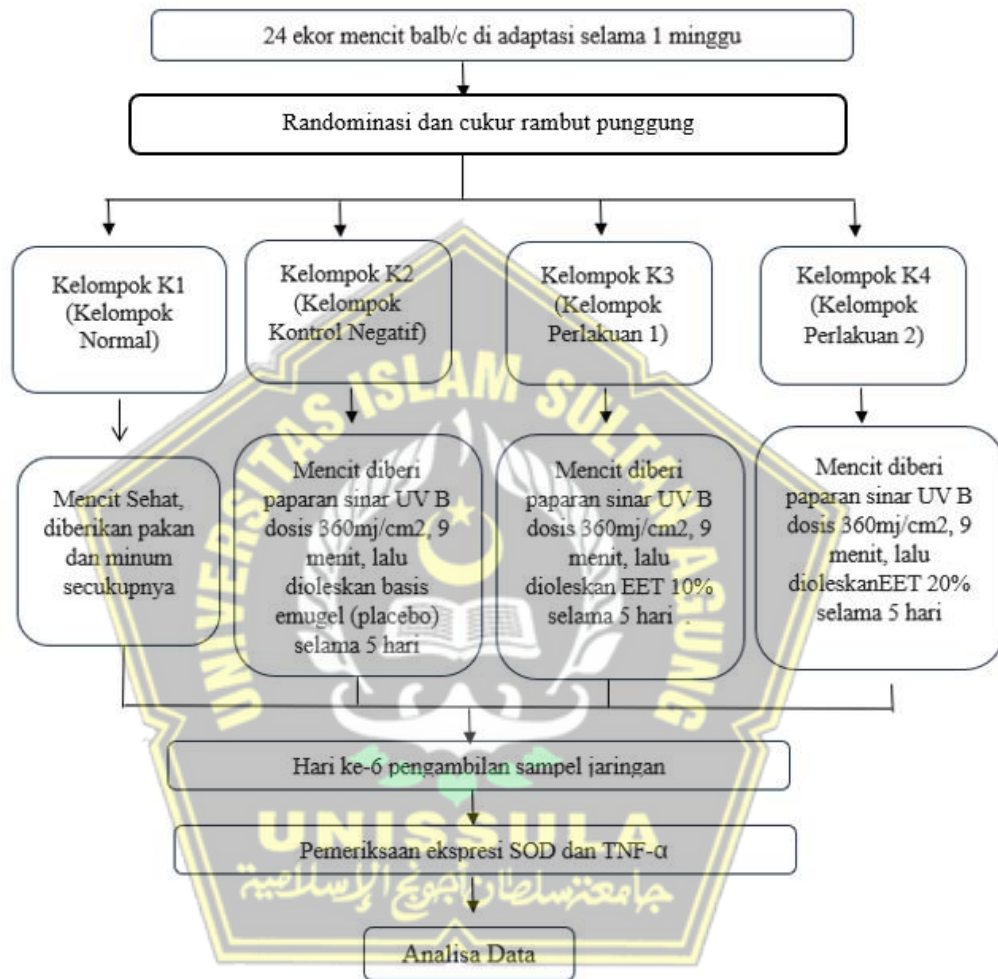
4.6. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium *Integrated Biomedical Laboratorium* (IBL), Fakultas Kedokteran UNISSULA Semarang dan dilanjut pemeriksaan IHC SOD dan TNF- α di laboratorium Patologi Anatomi Universitas Negri Surakarta Sebelas Maret (UNS) Solo. Riset dilaksanakan bulan Agustus – Oktober 2024.

4.7. Analisa Data

Data dianalisis menggunakan uji deskriptif, normalitas, dan homogenitas. Kemudian dilakukan uji normalitas data dengan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas varian data dengan uji *Levene* ($p > 0,05$). Karena terdapat sebaran data yang tidak normal maka terlebih dahulu dilakukan transformasi data. Dan karena distribusi data tetap tidak normal, maka dilanjutkan alternatif uji non-parametrik dengan uji *Kruskal Wallis* ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji non parametrik *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok. Pengolahan analisis data dilakukan dengan menggunakan SPSS *for Windows*.

4.8. Alur Penelitian



Gambar 4.2. Alur Penelitian

BAB V

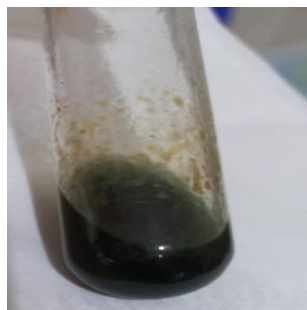
HASIL dan PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1. Uji Aktivitas Antioksidan (DPPH) dan Skrining Likopen Ekstrak

tomat yang sudah didapat kemudian dilakukan pemeriksaan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dan didapat nilai IC₅₀ yaitu sebesar 17,36 µg/ml yang berarti ekstrak tomat memiliki antioksidan yang sangat kuat. Berdasarkan kriteria IC₅₀, suatu senyawa dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 µg/ml. Mengenai hasil pemeriksaan IC₅₀, terlampir dalam lampiran 4.

Selain itu, dilakukan pula skrining kualitatif untuk mendeteksi keberadaan likopen dalam ekstrak tomat dengan menggunakan reagen *Carr Price* (SbCl₃ dalam kloroform). Hasil skrining dapat dilihat pada gambar 5.1.



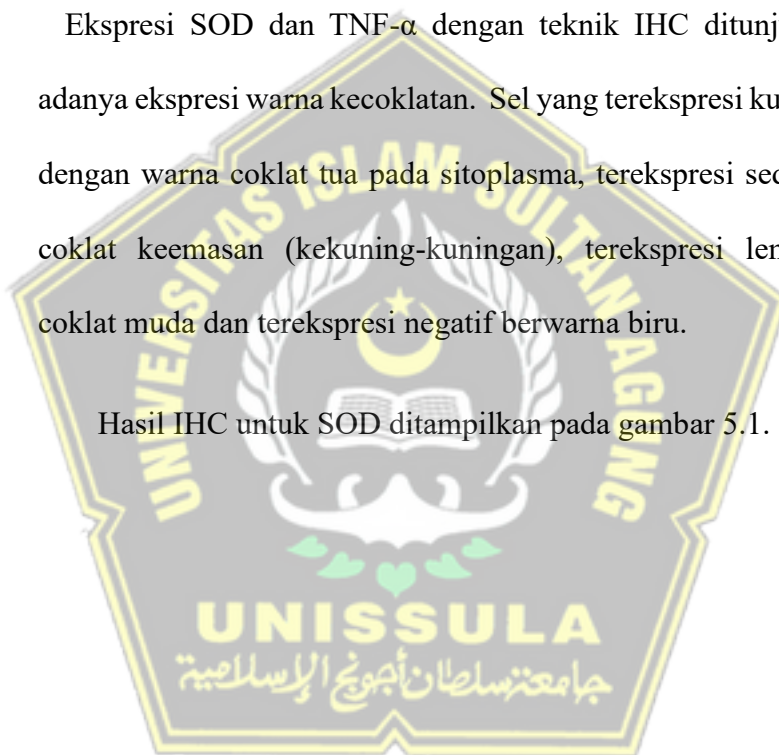
Gambar 5.1. Skrining kualitatif likopen dengan reagen *Carr Price*

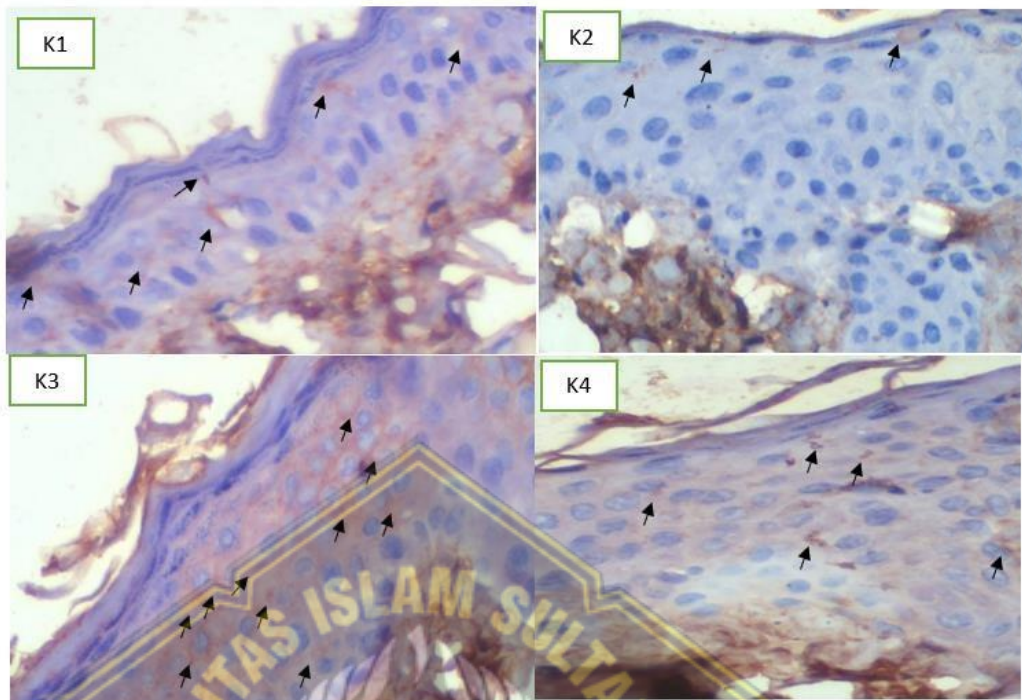
Hasil menunjukkan reaksi positif ditandai dengan perubahan warna menjadi biru kecoklatan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tomat mengandung likopen.

5.1.3. Hasil IHC SOD dan TNF- α

Ekspresi SOD dan TNF- α dengan teknik IHC ditunjukkan dengan adanya ekspresi warna kecoklatan. Sel yang terekspresi kuat ditunjukkan dengan warna coklat tua pada sitoplasma, terekspresi sedang berwarna coklat keemasan (kekuning-kuningan), terekspresi lemah berwarna coklat muda dan terekspresi negatif berwarna biru.

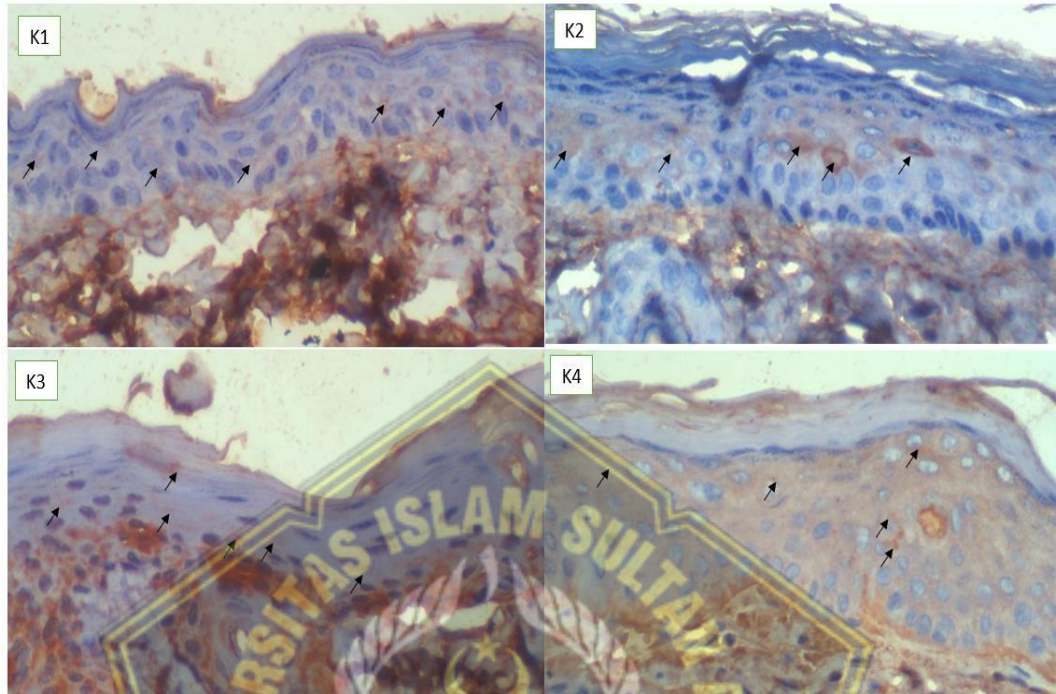
Hasil IHC untuk SOD ditampilkan pada gambar 5.1.





Gambar 5.1. Gambaran Imunohistokimia ekspresi SOD. Pada pembesaran mikroskopis 200x pulasan IHC SOD terlihat gambaran positif dari sitoplasma berwarna coklat. **K1.** Kontrol normal tampak ekspresi SOD, **K2.** Kontrol negatif ekspresi SOD lebih sedikit di sitoplasma epidermis. **K3.** Pada pemberian EET 10% ekspresi SOD tampak menumpuk di sitoplasma epidermis. **K4.** Pada pemberian EET 20% pewarnaan ekspresi SOD tampak menurun sitoplasma epidermis.

Hasil IHC untuk TNF- α ditampilkan pada gambar 5.2.



Gambar 5.2. Gambaran Imunohistokimia ekspresi TNF- α . Pada pembesaran mikroskopis 200x pulasan IHC TNF- α terlihat gambaran positif dari sitoplasma berwarna coklat. **K1.** Kontrol normal tampak pewarnaan ekspresi TNF- α , **K2** Kontrol negatif tampak pewarnaan ekspresi TNF- α , **K3.** Pada pemberian EET 10% tampak pewarnaan ekspresi TNF- α di sitoplasma epidermis. **K4.** Pada pemberian EET 20% pewarnaan ekspresi TNF- α tampak coklat muda sitoplasma epidermis.

5.1.3 Analisis data statistik SOD dan TNF- α

Tabel 5.1 Hasil Analisis Rerata, Uji Normalitas, Uji Homogenitas pada Kadar SOD dan TNF- α .

Variabel	Kelompok	n	Rata-rata \pm SEM	Uji Shapiro-Wilk (p)	Uji Levene (p)	Uji Kruskal-Wallis (p)
Ekspresi SOD (%)	K1	6	9,16 \pm 4,32	0,207*	0,074**	0,041***
	K2	6	6,40 \pm 1,82	0,632*		
	K3	6	29,63 \pm 8,61	0,138*		
	K4	6	17,84 \pm 4,85	0,138*		
Ekspresi TNF- α (%)	K1	6	74,84 \pm 15,89	0,002	0,478**	104
	K2	6	37,01 \pm 14,92	0,102*		
	K3	6	69,78 \pm 13,54	0,097*		
	K4	6	46,97 \pm 10,92	0,795*		

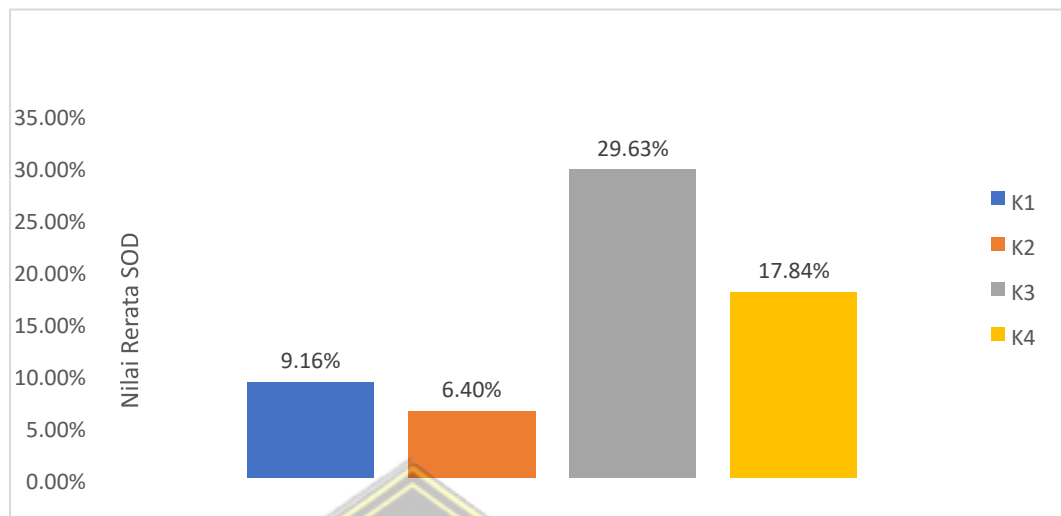
Keterangan: *Uji Saphiro Wilk: $p > 0,05$ = data berdistribusi normal

** Levene Test: $p > 0,05$ = homogen

***Kruskal-Wallis: $p < 0,05$ = terdapat perbedaan makna

Berdasarkan hasil analisis data pada tabel 5.1 nilai rata-rata ekspresi SOD tertinggi ditemukan pada kelompok K3 yaitu sebesar $29,63 \pm 8,61$ SEM, sedangkan nilai terendah ada pada kelompok K2 sebesar $6,40 \pm 1,82$ SEM. Uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data K4 tidak berdistribusi normal ($p = 0,037$). Karena terdapat data yang tidak berdistribusi normal, analisis dilanjutkan dengan Uji *Kruskal-Wallis*, yang menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ($p = 0,041$).

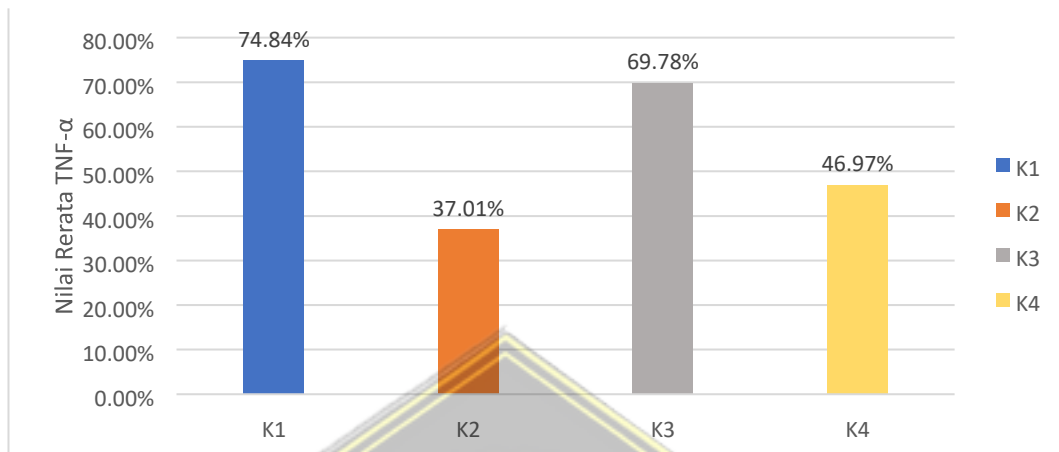
Analisis data statistik berupa histogram dapat dilihat pada gambar 5.3.



Gambar 5.3. Histogram analisis data SOD.

Dari tabel 5.1 untuk ekspresi TNF- α tertinggi ditemukan pada kelompok K1 ($74,84 \pm 15,89$ SEM), sedangkan nilai terendah terdapat pada kelompok K2 ($37,01 \pm 14,92$ SEM). Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data dari kelompok K1 tidak berdistribusi normal ($p = 0,002$), sehingga analisis dilanjutkan dengan uji non-parametrik *KruskalWallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antar kelompok ($p = 0,104$), yang berarti bahwa semua kelompok perlakuan menunjukkan tingkat ekspresi TNF- α yang tidak berbeda secara signifikan.

Analisis data statistik berupa histogram TNF- α dapat dilihat pada gambar 5.4.



Gambar 5.4. Histogram analisis data TNF- α .

5.1.4 Perbedaan Ekspresi SOD antar kelompok

Perbedaan ekspresi SOD antar 2 kelompok diketahui dengan Uji *Mann-Whitney* seperti yang disajikan dalam tabel berikut.

Tabel 5.2. Perbedaan ekspresi SOD antar 2 kelompok.

Kelompok		P
I	II	
K1	K2	1,000
	K3	0,037*
	K4	0,150
K2	K3	0,006*
	K4	0,200
K3	K4	0,423

Keterangan: : *Signifikan: $p < 0,05$

Berdasarkan hasil uji perbedaan SOD antar kelompok perlakuan menggunakan uji *Mann-Whitney*, ditemukan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok K1 (kontrol normal) dan kelompok K3 (mencit dipapar UVB dan EET 10%) dengan nilai $p = 0.037$. Selain itu,

terdapat perbedaan bermakna antara kelompok K2 (mencit dipapar UVB dengan placebo) dan kelompok K3 ($p = 0.006$). Namun, tidak ditemukan perbedaan yang signifikan antara kelompok K1 dan K2 ($p = 1,000$), kelompok K1 dan K4 ($p = 0.150$), antara kelompok K2 dan K4 ($p = 0.200$) dan kelompok K3 dan K4 ($p=0,423$). Berdasarkan hasil analisis dapat terlihat bahwa pemberian emulgel ekstrak tomat (EET) dosis 10% dapat meningkatkan kadar SOD secara signifikan, sedangkan pemberian EET dosis 20% tidak menunjukkan efek yang signifikan terhadap ekspresi SOD.

5.2 Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek emulgel ekstrak tomat (EET) terhadap aktivitas SOD dan TNF- α pada mencit yang dipapar UVB akut. Sebelum melakukan perlakuan terhadap hewan coba, dilakukan ekstraksi tomat terlebih dahulu yang kemudian dilanjutkan dengan pembuatan sediaan. Pemilihan metode ekstraksi tomat dilakukan dengan mempertimbangkan tujuan penelitian, yaitu memperoleh senyawa bioaktif utama dalam tomat seperti likopen, flavonoid, vitamin C, dan vitamin E. Senyawa-senyawa ini memiliki karakteristik kimia yang berbeda, ada yang bersifat lipofilik (larut dalam lemak) dan ada pula yang bersifat hidrofilik (larut dalam air). Metode ekstraksi yang dipilih adalah maserasi, yaitu perendaman menggunakan campuran pelarut etanol dan etil asetat. Metode maserasi dipilih karena kesederhanaannya serta kemampuannya untuk

mengekstraksi senyawa bioaktif pada suhu rendah, sehingga mengurangi risiko degradasi senyawa yang sensitif terhadap panas.

Pelarut yang digunakan dalam proses ini dipilih berdasarkan karakteristik senyawa yang ingin diekstraksi. Etanol 96% dipilih karena merupakan pelarut polar yang efektif dalam mengekstraksi senyawa hidrofilik seperti flavonoid dan vitamin C. Selain itu, etanol dianggap aman dan umum digunakan dalam industri pangan dan farmasi. Etil asetat digunakan untuk mengekstraksi senyawa lipofilik, seperti likopen, yang tidak larut dalam air atau alkohol murni. Kombinasi kedua pelarut ini diharapkan dapat mengoptimalkan ekstraksi seluruh spektrum senyawa bioaktif yang terdapat di dalam tomat. Waktu perendaman disesuaikan untuk memberikan waktu yang cukup bagi senyawa aktif untuk larut sepenuhnya, tanpa terlalu lama yang dapat menyebabkan degradasi. Suhu ekstraksi dijaga pada suhu ruangan hingga maksimum 50°C, karena suhu yang lebih tinggi dapat merusak senyawa-senyawa sensitif seperti vitamin C. Setelah proses ekstraksi selesai, *rotary evaporator* digunakan untuk menghilangkan pelarut pada suhu rendah di bawah tekanan vakum. Alat ini dipilih karena mampu menjaga kestabilan senyawa bioaktif selama proses penguapan, memastikan ekstrak tomat yang dihasilkan mengandung komponen aktif dengan kualitas yang tinggi dan bebas dari pelarut sisa. Pemilihan metode ini dirancang untuk menghasilkan ekstrak tomat yang efisien, stabil, dan kaya akan senyawa bioaktif yang diinginkan.

Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak tomat menggunakan metode DPPH menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 17,36 µg/ml, yang

mengindikasikan potensi antioksidan yang cukup tinggi. Hasil ini menarik jika dibandingkan dengan penelitian Yusop et al. (2020) yang melaporkan bahwa tomat ceri merah memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC50 sebesar 1,7 mg/ml, diikuti oleh tomat truss (2,1 mg/ml), tomat ceri kuning (4,0 mg/ml), dan tomat (5,6 mg/ml). Perbedaan nilai IC50 ini dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti varietas tomat, tingkat kematangan, metode ekstraksi, dan kondisi pertumbuhan tanaman. Semakin rendah nilai IC50, semakin tinggi kemampuan antioksidan suatu senyawa. Aktivitas antioksidan yang kuat pada ekstrak tomat merah kemungkinan disebabkan oleh sinergi antara likopen, vitamin C, dan flavonoid. Ketiga komponen ini bekerja bersama untuk melindungi sel dari radikal bebas, memperkuat sistem pertahanan tubuh, serta mencegah peradangan dan kerusakan jaringan akibat oksidasi.⁵⁰

5.2.1 Pengaruh Emulgel Ekstrak Tomat terhadap Aktivitas SOD pada mencit yang dipapar UVB akut

SOD adalah enzim antioksidan yang berfungsi sebagai pertahanan fisiologis melawan radikal dan ROS akibat stres endogen dan eksogen.^{17,18} Pada hasil penelitian didapat nilai rata-rata ekspresi SOD tertinggi ditemukan pada kelompok K3 yaitu sebesar $29,63 \pm 21,03$ sedangkan nilai terendah ada pada kelompok K2 sebesar $6,40 \pm 4,45$, sementara pada K1 nilai rerata $9,16 \pm 10,56$ dan K4 adalah $17,84 \pm 11,87$. Hal ini menunjukkan bahwa pada kelompok K3 dosis EET 10% aktivitas

SOD meningkat secara signifikan dibanding kelompok kontrol normal (K1) dan kontrol negatif (K2). Hal ini sesuai dengan hipotesis yang dibuat dalam penelitian ini yaitu terdapat pengaruh EET 10% dan 20% secara topikal terhadap kadar SOD. Hal ini juga sejalan dengan beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa likopen, sebagai komponen bioaktif utama dalam tomat, berperan penting dalam menangkal radikal bebas dan mengurangi stres oksidatif.¹⁷ Meningkatnya aktivitas enzim SOD bisa dikarenakan mekanisme kerja langsung maupun tidak langsung. Meningkatnya aktivitas enzim SOD dapat dijelaskan melalui mekanisme kerja likopen yang berkaitan dengan struktur uniknya. Likopen yang merupakan senyawa lipofilik, memiliki rantai karbon panjang dengan banyak ikatan rangkap terkonjugasi. Struktur ini memungkinkan likopen bertindak sebagai *radical scavenger* yaitu menangkap radikal bebas melalui mekanisme transfer elektron dalam rantai konjugasi tersebut sehingga likopen mampu menetralkan radikal bebas, mengurangi pembentukan ROS sehingga melindungi sel dari stres oksidatif. Secara tidak langsung, likopen mampu meningkatkan ekspresi antioksidan endogen melalui beberapa mekanisme seperti melalui aktivasi *nuklear factor erythroid 2 related factor* (Nrf2) sehingga terjadi peningkatan dalam sintesis enzim SOD.⁴⁶ Adapun mineral penting yang terkandung dalam ekstrak tomat antara lain Cu, Mn, Zn yang juga berperan sebagai ko faktor enzim SOD, sehingga kemampuan kerja SOD meningkat.

Pada hasil penelitian ini didapatkan bahwa EET dosis 20% tidak memberikan efek lebih signifikan dibandingkan dengan EET dosis 10%. Hal ini dapat terjadi karena adanya mekanisme difusi pasif dan faktor fisiologis kulit. Likopen, diserap ke kulit melalui difusi pasif, dimana molekul berpindah dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah. Selain itu, formulasi emulgel yang digunakan dalam penelitian ini memiliki keunggulan dalam meningkatkan penetrasi likopen ke kulit melalui hidrasi kulit dan stabilitas strukturnya. Namun, efek optimal dari emulgel mungkin telah tercapai pada konsentrasi 10% sehingga peningkatan dosis hingga 20% tidak memberikan manfaat yang lebih besar

Pada dosis yang lebih tinggi, seperti 20%, gradien konsentrasi yang diperlukan untuk meningkatkan penyerapan mungkin tidak cukup besar, karena kulit memiliki kapasitas fisiologis tertentu untuk menyerap dan menyimpan likopen. Dengan demikian, dosis 20% dapat menyebabkan akumulasi likopen pada permukaan kulit tanpa memberikan efek terapeutik tambahan.

5.2.2 Pengaruh Emulgel Ekstrak Tomat terhadap TNF- α .

Eksresi TNF- α terendah tercatat pada kelompok K2 yang dipapar UVB dan diberikan basis emulgel, yaitu sebesar $37,01 \pm 36,50$ %.

Sementara itu, kelompok kontrol normal (K1) yang tidak dipapar UVB dan tidak menerima perlakuan apapun memiliki eksresi TNF- α sebesar $74,84 \pm 38,88$ %, yang merupakan angka tertinggi di antara semua kelompok. Pada kelompok K3, yang menerima EET 10%, terjadi

penurunan ekspresi TNF- α dari K1 menjadi $69,78 \pm 33,07$. Selanjutnya, kelompok K4 yang menerima EET 20% menunjukkan ekspresi TNF- α sebesar $46,97 \pm 26,69$, yang lebih tinggi dibandingkan kelompok K2.

Kelompok K2, yang dipapar UVB dan diberikan basis emulgel, menunjukkan ekspresi TNF- α yang paling rendah dibandingkan dengan semua kelompok lainnya. Namun, ternyata ekspresi TNF- α pada K3 dan K4 justru lebih tinggi daripada K2 (kontrol negatif). Namun, hasil penelitian ini tidak sejalan dengan hipotesis penelitian dimana diharapkan terdapat pengaruh EET 10% & 20% terhadap penurunan TNF- α .

Beberapa faktor kemungkinan dapat saja berkontribusi terhadap hasil ini. Salah satu faktornya adalah respons individu mencit terhadap paparan UVB, yang dapat mempengaruhi ekspresi TNF- α . Setiap mencit mungkin memiliki variasi genetik atau karakteristik fisiologis yang mempengaruhi sensitivitas mereka terhadap stres oksidatif dan inflamasi yang diinduksi oleh UVB, sehingga menghasilkan tingkat ekspresi TNF- α yang bervariasi antar individu

Efek ini dapat juga berkaitan dengan mekanisme adaptif pada mencit yang mengalami paparan UVB secara bertahap, dimana sistem imun mencit mungkin beradaptasi untuk mengurangi respons inflamasi seiring berjalannya waktu. Selain itu, kondisi fisiologis mencit seperti hidrasi kulit, status nutrisi, atau bahkan interaksi dengan faktor lingkungan dalam kandang penelitian dapat mempengaruhi hasil akhir ekspresi TNF- α . Kondisi tersebut diatas tentunya menjadi keterbatasan

dalam penelitian ini, karena tidak dilakukannya pemeriksaan kesehatan berkala oleh pihak yang bersertifikasi (dokter hewan yang berkompeten) pada seluruh mencit yang digunakan dalam penelitian, sehingga nantinya didapatkan data yang objektif terhadap kondisi kesehatan mencit.



Bab VI

Kesimpulan dan Saran

6.1 Kesimpulan.

1. Ekstrak tomat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 17,36 µg/ml berdasarkan uji DPPH, yang memenuhi kriteria aktivitas antioksidan sangat kuat (IC₅₀ < 50 µg/ml).
2. Terdapat pengaruh pemberian topikal EET 10% dan 20% terhadap peningkatan aktivitas SOD. Dosis 10% menunjukkan peningkatan aktivitas SOD yang signifikan dibanding 20%.
3. Pemberian EET 10% dan 20% tidak menunjukkan penurunan kadar TNF- α , dan tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kelompok.

6.2 Saran

1. Untuk mempelajari jalur molekuler yang lebih spesifik dalam regulasi TNF α , seperti jalur MAPK atau NF- κ B, untuk lebih memahami mekanisme kerja ekstrak tomat dalam mereduksi stres oksidatif dan inflamasi.
2. Menguji efek jangka panjang pemberian ekstrak tomat, terutama terkait dengan inflamasi kronis dan respon imun yang lebih luas.
3. Mempertimbangkan pengujian rentang dosis yang bervariasi agar lebih efektif dalam meningkatkan aktivitas antioksidan dan menurunkan inflamasi.

4. Menguji potensi efek sistemik dari ekstrak tomat melalui pemberian oral, guna mengetahui apakah efek yang serupa dapat diperoleh pada kondisi peradangan internal tubuh.



DAFTAR PUSTAKA

1. Pratiwi, S., & Husni, P. Artikel Tinjauan: Potensi Penggunaan Fitokonstituen Tanaman Indonesia sebagai Bahan Aktif Tabir Surya. *Farmaka*. 2014;15(4):18.
2. Putranti, I. O., & Sistina, Y. Tinjauan Pustaka: Fotobiologi Ultraviolet pada Jaringan Kulit [Article Review: Photobiology of the Skin]. *Mandala of Health*. 2021; 13(2): 33-55. DOI: 10.20884/1.mandala.2023.16.1.8379. ISSN: 02163098.
3. Ngoc, L. T. N., Tran, V. V., Moon, J.-Y., Chae, M., Park, D., & Lee, Y.-C. Recent Trends of Sunscreen Cosmetic: An Update Review. *Department of BioNano Technology, Gachon University, 2019; 1-15*.
4. Pratama, G. M. C. T., Hartawan, I. G. N. B. R. M., Indriani, I. G. A. T., Yusrika, M. U., Suryantari, S. A. A., & Satyarsa, A. B. S. Potensi Ekstrak *Spirulina platensis* sebagai Tabir Surya terhadap Paparan Ultraviolet B [Potency of *Spirulina platensis* Extract as Sunscreen on Ultraviolet B Exposure]. *Journal of Medicine and Health*. 2020; 2(6). e-ISSN: 2442-5257.
5. Bowers, J. M., Hamilton, J. G., Lobel, M., Kanetsky, P. A., & Hay, J. L. Sun Exposure, Tanning Behaviors, and Sunburn: Examining Activities Associated With Harmful Ultraviolet Radiation Exposures in College Students. *J Prim Prev*. 2021;42(5):425-440.
6. Mumtazah Pamudji, Raden. Hubungan tingkat pendidikan dengan pengetahuan pekerja di Palembang mengenai penggunaan tabir surya. *Syifa' MEDIKA: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*. (Online).2019; Vol. 8, No. 1, Hal. 11, (<https://core.ac.uk/>, diakses 21 april 2021).
7. Simanjutak E, Zulham. Superoksida Dismutase (SOD) dan Radikal Bebas. *Jurnal Keperawatan dan Fisioterapi*. 2019;2(2):124-127.
8. Hidayah, H., Warsito, A. M. P., & Dinanti, D. Review Article: Potential Of Antioxidant Activities From Various Plant For Sunscreen. *Jurnal Penelitian Sainstek*. 2023; 6(2): 409-415.
9. Sohail Ab M, Baig MMAF, Akhtar N, Chen Y, Xie B, Li B. Topical lycopene emulsifier significantly improves the biophysical parameters of human skin. *European Journal Pharmacy and Biopharmacy*. 2022;180:281-288.
10. Hadi, Achmad Syaiful. Khasiat buah tomat (*Solanum Lycopersicum* L.) berpotensi sebagai obat berbagai jenis penyakit. *Journal of Progressive Science and Mathematics*. 2023; 1(1).
11. Fatmawati H, Satuman, Endang SW, Rudijanto A, Indra MR. Pengaruh Likopen terhadap Penurunan Aktivitas Nuclear Factor kappa Beta (NF-kB) dan Ekspresi Intracelular Cell Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) pada Kultur HUVECs yang Dipapar Leptin. *Jurnal Ilmu Dasar*. 2010;11(2):143-150.
12. Milutinov J, Krstonošić V, Ćirin D, Pavlović N. Emulgel: A promising carrier system for foodstuffs and medicines. *Polymer (Basel)*. 2023;15(10):2302. doi:10.3390/polym15102302

13. Sohail M, Naveed A, Abdul R, Gulfishan, Khan HMS, Khan H. An approach to enhanced stability: Formulation and characterization of Solanum

lycopersicum derived lycopene based topical emulgel. *Saudi Pharm J.* 2018 Dec;26(8):1170-1177.

14. Wahyono, P., Soetjipto, S., Harjanto, H., & Suhariningsih, S. Efek Jus Buah Tomat (*Lycopersicum pyriforme*) terhadap Pencegahan Fotoaging Kulit Akibat Iradiasi Sinar Ultraviolet-B. *JBP.* 2011; 13(3).
15. J. Josephine, A. Candra, and A. Rahadiyanti. efek ekstrak tomat (*solanum lycopersicum*) terhadap enzim katalase hepar tikus wistar (*rattus norvegicus*) yang terpapar minyak jelantah," *JNH.* 2020; 8(1): 1-11.
16. Zhang, X., Zhou, Q., Qi, Y., et all. The effect of tomato and lycopene on clinical characteristics and molecular markers of UV-induced skin deterioration: A systematic review and meta-analysis of intervention trials. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 2023.
17. Upit, S. F., Bodhi, W., & Lebang, J. S. Uji Efektivitas Gel Ekstrak Buah Tomat (*Solanum lycopersicum L*) terhadap Luka Sayat pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*). *Pharmacon.* 2021;10(4):1081.
18. Carolina B, Soegiharto GS, Evacuasiyany E. Pengaruh Mengonsumsi Tomat Ceri (*Solanum lycopersicum L. var. cerasiforme*) Terhadap Indeks Gingiva. *SONDE (Sound of Dentistry).* 2018;3(1):122.
19. Waahjuni, S. Superoksida Dismutase (SOD) Sebagai Prekursor Antioksidan Endogen pada Stress Oksidatif. Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana. Udayana University Press. 2015
20. Wang, Y., Branicky, R., Noë, A., & Hekimi, S. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *J. Cell Biol.* 2018; 217(6): 1915–1928.
21. Adi Parwata, I. M. O. A. Antioksidan (Bahan Ajar). Program Pascasarjana, Kimia Terapan, Universitas Udayana. 2016
22. Rosa, A. C., Corsi, D., Cavi, N., Brun, N., & Dosio, F. Superoxide Dismutase Administration: A Review of Proposed Human Uses. *Molecules.* 2021; 26(7): 1844.
23. Wresdiyati, T., Astawan, B., & Hastanti, L. Y. Profil Imunohistokimia Superoksida Dismutase (SOD) pada Jaringan Hati Tikus dengan Kondisi Hiperkolesterolemia. *Jurnal Biosains Hayati.* 2006; 13(3): 85-89.
24. Jang D, Lee AH, Shin HY, Song HR, Park JH, Kang TB, Lee SR, Yang SH. The Role of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) in Autoimmune Disease and Current TNF- α Inhibitors in Therapeutics. *International Journal of Molecular Science.* 2021;22(5):2719. doi:10.3390/ijms22052719.

25. Wajant H, Siegmund D. TNFR1 and TNFR2 in the Control of the Life and Death Balance of Macrophages. *Front Cell Dev Biol.* 2019 May 29;7:91. doi: 10.3389/fcell.2019.00091. eCollection 2019.
26. Ansary TM, Hossain MR, Kamiya K, Komine M, Ohtsuki M. Inflammatory Molecules Associated with Ultraviolet Radiation-Mediated Skin Aging. *International Journal Of Molecular Science.* 2021 Apr;22(8):3974. doi: 10.3390/ijms22083974.
27. Kankaanranta H, Ilmarinen P, Zhang X, Adcock IM, Lahti A, Barnes PJ, et al. Tumour Necrosis Factor- α Regulates Human Eosinophil Apoptosis via Ligation of TNF-Receptor 1 and Balance between NF- κ B and AP-1. *PLoS One.* 2014 Feb 28;9(2). doi: 10.1371/journal.pone.0090298.
28. Nofriati, D., Izhar, L., & Primilestari, S. Penanganan Pascapanen Tomat. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Jambi, Badan Penelitian Dan Pengembangan Pertanian, Kementrian Pertanian. 2018
29. Mehta, Ravi. History of Tomato (Poor Man 's Apple). *Journal Of Humanities And Social Science.* 2017; 22 (8): 31–34Surbakti, E. S. B., & Berawi, K. N. "Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) sebagai Anti Penuaan Kulit." *Majority.* 2016; 5(3): 73-77.
30. Kumari, S., Goyal, A., & Garg, M. Phytochemistry and Pharmacological update on Tetraterpenoids. *The Natural Products Journal.* 2020; 10: 1-13.
31. Hasfikasari P, Faradiba, Amin A. Review Artikel: Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Tomat (*Solanum Lycopersicum* L.). *Makassar Natural Product Journal.* 2024;2(1)(5),43-50)
32. Eveline, Siregar TM, Sanny. Studi Aktivitas Antioksidan pada Tomat (*Lycopersicon esculentum*). *Jurnal Fak Tek Univ Wahid Hasyim Semarang.* 2014:22–8.
33. Story, E. N., Kopec, R. E., Schwartz, S. J., & Harris, G. K. An Update on the Health Effects of Tomato Lycopene. *Annual Review of Food Science and Technology.* 2010
34. Ernawati,evi. *Likopen. Artikel Kimia dan Farmasi.* Diakses dari: <https://kimiafarmasi.wordpress.com/2010/09/02/likopen/>
35. Moroni, M., Pirovano M., Brugnattelli, S, Et All. Lycopene Minimizes Skin Toxicity And Oxidative Stress In Patients Treated With PanitumumabContaining Therapy For Metastatic Colorectal Cancer. *Journal Of Functional Foods.* 2021;(83).
36. Ali, M. Y., Ibn Sina, A. A., Khandker, S. S., Neesa, L., Tanvir, E. M., Kabir, A., Khalil, M. I., & Gan, S. H. (2021). Nutritional composition and bioactive compounds in tomatoes and their impact on human health and disease: A review. *Foods, 10*(1), 45.
37. Wei M, He X, Liu N, Deng H. Role of reactive oxygen species in ultravioletinduced photodamage of the skin. *Cell Div.* 2024;19(1):1. doi: 10.1186/s13008-024-00107-z.

38. Sohail M, Baig MMFA, Akhtar N, Chen Y, Xie B, Li B. Topical lycopene emulgel significantly improves biophysical parameters of human skin. *European Journal Pharm Biopharm.* 2022 Nov;180:281-288. doi:10.1016/j.ejpb.2022.10.016.
39. Pujiastuti A, Kristiani M. Formulasi dan Uji Stabilitas Mekanik Hand and Body Lotion Sari Buah Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sebagai Antioksidan. 2019;16:42–55.)
40. Husaana Atina, Suparmi, Murti H.A., Protective Effect of Bixin Isolated from *Bixa Orellana* L. Seeds on UVB-Induced Inflammation and Immunosuppressions of the skin. *Bangladesh Journal Of Medical Science.* 2019; 18(01): 107-110.
41. Widayati, E. Oxidasi Biologi, Radikal Bebas, dan Antioxi-dan. **Majalah Ilmiah Sultan Agung**, Bagian Kimia-Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung (Unissula), Semarang. 2012; 50(128).
42. Maulida, D., & Zulkarnaen, N. Ekstraksi Antioksidan (Likopen) dari Buah Tomat dengan Menggunakan Solven Campuran, n-Heksana, Aseton, dan Etanol. *Jurusan Teknik Kimia.* 2010
43. Suena NMDS, Suradnyana IGM, Juanita RrA. FORMULASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN GRANUL EFFERVESCENT DARI KOMBINASI EKSTRAK KUNYIT PUTIH (*Curcuma zedoaria*) DAN KUNYIT KUNING (*Curcuma longa* L.). *Jurnal Ilmiah Medicamento.* 2021 Mar 31;7(1):32–40.
44. Pandya, D., Akbari, S., Bhatt, H., & Joshi, D.C. Standardization of solvent extraction process for Lycopene extraction from tomato pomace. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering.* 2017;2(1):12-16. Mj,k.
45. Setiani, I., & Endriyatno, N. C. Formulasi Gel Ekstrak Buah Tomat (*Solanum Lycopersicum* L.) dengan Variasi Konsentrasi HPMC serta Uji Fisiknya. *Indonesian Journal of Pharmaceutical (e-Journal).* 2023; 3(3): 378-390
46. Alissya Swastika NSP, Mufrod, & Purwanto. Antioxidant Activity of Cream Dosage Form of Tomato Extract (*Solanum Lycopersicum* L.). *Trad. Med. J.* 2013; 18(3):132-140.
47. Daud, N. S., & Suyanti, E. Formulasi Emulgel Antijerawat Minyak Nilam (Patchouli oil) Menggunakan Tween 80 dan Span 80 sebagai Pengemulsi dan HPMC sebagai Basis Gel. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia.* 2017;3(2)
48. Fatchiyah, Estri Laras Arumingtyas, Sri Widyarti, & Sri Rahayu. *Biologi Molekuler: Prinsip Dasar Analisis.* Jakarta: Erlangga. 2011: 143-146.
49. Landis GN, Tower J. Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mech Ageing Dev.* 2005;126(3):365-79.
50. Md Yusop N, Zhafir Hishammudin M, Yahaya N, Ishak N, Farhana Ramlee N, Hanim Zaini Z. GC-MS SCREENING OF METABOLITES AND ANTIOXIDANT PROPERTIES IN FOUR VARIANTS OF SOLANUM LYCOPERSICUM (TOMATO). Vol. 4, Jurnal Kejuruteraan dan Sains Kesihatan Journal of Engineering and Health Sciences Jilid.