

**PENGARUH PEMBERIAN GEL EKSTRAK KULIT
BUAH DELIMA TERHADAP EKSPRESI CD163
DAN KADAR IL-10**

Studi Eksperimental Pada Tikus Wistar yang dipapar sinar UVB

Tesis

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



Magister Ilmu Biomedik

**Farrah Al Gadri Arief
MBK.23.21.010350**

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

2025

TESIS
PENGARUH PEMBERIAN GEL EKSTRAK KULIT
BUAH DELIMA TERHADAP EKSPRESI CD163
DAN KADAR IL-10
Studi Eksperimental Pada Tikus Wistar yang dipapar sinar UVB

disusun oleh:

Farrah Al Gadri Arief
MBK.23.21.010350

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada tanggal 07 Mei 2025
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

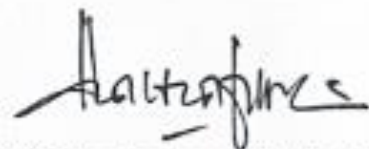
Menyetujui:

Pembimbing I



Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan,
Sp.D.V.E, Subsp.D.K.E, FINS DV, FAADV
NIDN: 8951110021

Pembimbing II



Dr. dr. Minidian Fasitasari, M.Sc, Sp.GK
NIDN. 0604047501

Mengetahui,

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




Dr. dr. Eko Setiawan Sp.B, FINACS
NIK: 210113160

SURAT PERNYATAAN

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

Semarang, 15 Mei 2025



Farrah Al Gadri Arief
MBK.23.21.010350

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Pertama-tama penulis mengucapkan Alhamdulillahirrabbi lalamin puji syukur kehadiran Allah SWT Tuhan Yang Maha Kuasa yang telah memberikan nikmat sehat dan keberkahanNya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penulisan proposal tesis ini untuk memenuhi dan melengkapi tugas akhir program magister pasca sarjana (S2). Shalawat serta salam selalu tercurah kepada Baginda Nabi Besar Muhammad Sallallahu alaihi wassallam yang selalu menginspirasi untuk senantiasa memberikan kebermanfaatan kepada sesama.

Pada akhirnya penulis dapat menyelesaikan penulisan proposal tesis dengan judul “PENGARUH PEMBERIAN GEL EKSTRAK KULIT BUAH DELIMA TERHADAP EKSPRESI CD163 DAN KADAR IL-10 : Studi eksperimental Pada Tikus Wistar yang dipapar sinar UVB” selama penulisan proposal tesis ini, penulis banyak mendapatkan dukungan, bimbingan, dan bantuan baik moril dan materil dari berbagai pihak. Oleh karenanya penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih yang tidak terhingga kepada :

1. Prof. Dr. H. Gunarto., SH., M.Hum selaku rektor Universitas Islam Sultan Agung beserta para wakil rektor yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh Pendidikan Magister Biomedik.
2. Dr.dr. Setyo Trisnadi., SH, Sp.KF dan jajarannya selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti program Magister Biomedik ini.
3. Dr. dr. Eko Setiawan Sp.B, FINACS selaku ketua Program Studi Magister

Ilmu Biomedik FK. Unissula banyak memberikan arahan dan saran yang konstruktif dalam menyelesaikan tesis.

4. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp.D.V.E, Subsp.D.K.E, FINSADV, FAADV selaku pembimbing I yang telah berkenan membimbing penulis dan memberikan arahan dan saran yang konstruktif dalam penulisan tesis.
5. Dr. dr. Minidian Fasitasari, M.Sc, Sp.GK selaku pembimbing II yang telah berkenan membimbing penulis dan memberikan arahan dan saran yang konstruktif dalam penulisan proposal tesis ini.
6. Dr. dr. Pasid Harlisa Sp. D. V. E. FINSADV, FAADV, Prof. Dr. Dra. Atina Husaana, Msi. Apt dan Dr. dr. Chodidjah, M.Kes, selaku dewan penguji yang telah berkenan menyempatkan waktu, memberikan masukan, kritik serta saran dalam penyusunan tesis ini.
7. Seluruh staf, rekan sejawat dan teman sesama peserta didik program Magister Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung yang telah memberikan dukungan dan bantuan dalam menyelesaikan tesis.
8. Terimakasih kepada laboran SCCR dan semua pihak yang turut membantu dalam menyelesaikan laporan tesis.

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

Semarang, Januari 2025



Farrah Al Gadri Arief

ABSTRAK

Latar Belakang: Paparan UVB mempercepat *photoaging* dengan merusak kolagen dan elastin. Ekspresi CD163 dan IL-10 berperan dalam mengurangi inflamasi serta regenerasi kulit. Kulit delima, kaya polifenol dan antioksidan, berpotensi melindungi kulit dengan efek samping minimal. Penelitian ini mengevaluasi efek gel ekstrak kulit buah delima (EKD) terhadap ekspresi CD163 dan kadar IL-10 pada tikus Wistar terpapar UVB.

Metode: Studi eksperimental dengan desain post-test only control group, dibagi 5 kelompok: K1 (kontrol sehat), K2 (kontrol negatif tanpa intervensi), K3 (kontrol positif, paparan UVB + gel vitamin C), K4 (paparan UVB + gel ekstrak kulit delima 10%), dan K5 (paparan UVB + gel ekstrak kulit delima 20%). Tikus dipapar sinar UVB (broadband 302 nm) dengan dosis 160 mJ/cm²/hari selama 7 hari pada jarak 12 cm. Jaringan diambil pada hari ke-8 untuk analisis ekspresi CD163 menggunakan RT-qPCR dan kadar IL-10 menggunakan ELISA. Data dianalisis dengan One-Way ANOVA dan Kruskal-Wallis.

Hasil: Penelitian menunjukkan ekspresi CD163 tertinggi pada kelompok gel vitamin C ($3,52 \pm 0,34$), sementara kelompok gel EKD 10% dan 20% lebih rendah dari kelompok tanpa intervensi ($1,72 \pm 0,89$ dan $2,72 \pm 0,22$; $p = 0,000$). Kadar IL-10 tertinggi pada tikus sehat ($91,48 \pm 26,94$) dan terendah pada paparan UVB tanpa intervensi ($24,28 \pm 7,79$). Kelompok gel EKD 10% dan 20% memiliki kadar IL-10 lebih tinggi dibanding gel vitamin C ($80,90 \pm 9,96$ dan $72,16 \pm 12,98$; $p = 0,001$).

Kesimpulan: Pemberian gel EKD memengaruhi ekspresi CD163 dan kadar IL-10 pada tikus Wistar yang terpapar UVB. Kelompok gel EKD 10% dan 20% menunjukkan ekspresi CD163 lebih rendah tetapi kadar IL-10 lebih tinggi dibandingkan kelompok gel vitamin C.

Kata Kunci: CD163, IL-10, gel ekstrak kulit delima, UVB

ABSTRACT

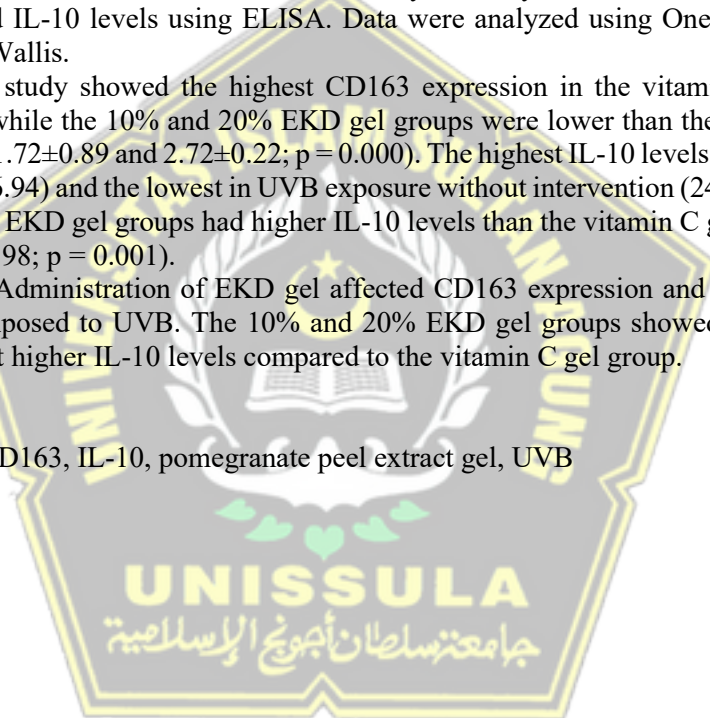
Background: UVB exposure accelerates photoaging by damaging collagen and elastin. CD163 and IL-10 expression play a role in reducing inflammation and skin regeneration. Pomegranate peel, rich in polyphenols and antioxidants, has the potential to protect the skin with minimal side effects. This study evaluated the effect of EKD gel on CD163 expression and IL-10 levels in Wistar rats exposed to UVB.

Methods: An experimental study with a post-test only control group design, divided into 5 groups: K1 (healthy control), K2 (negative control without intervention), K3 (positive control, UVB exposure + vitamin C gel), K4 (UVB exposure + 10% pomegranate peel extract gel), and K5 (UVB exposure + 20% pomegranate peel extract gel). Rats were exposed to UVB light (broadband 302 nm) at a dose of 160 mJ/cm²/day for 7 days at a distance of 12 cm. Tissue was taken on the 8th day for analysis of CD163 expression using RT-qPCR and IL-10 levels using ELISA. Data were analyzed using One-Way ANOVA and Kruskal-Wallis.

Results: The study showed the highest CD163 expression in the vitamin C gel group (3.52 ± 0.34), while the 10% and 20% EKD gel groups were lower than the group without intervention (1.72 ± 0.89 and 2.72 ± 0.22 ; $p = 0.000$). The highest IL-10 levels were in healthy rats (91.48 ± 26.94) and the lowest in UVB exposure without intervention (24.28 ± 7.79). The 10% and 20% EKD gel groups had higher IL-10 levels than the vitamin C gel (80.90 ± 9.96 and 72.16 ± 12.98 ; $p = 0.001$).

Conclusion: Administration of EKD gel affected CD163 expression and IL-10 levels in Wistar rats exposed to UVB. The 10% and 20% EKD gel groups showed lower CD163 expression but higher IL-10 levels compared to the vitamin C gel group.

Keywords: CD163, IL-10, pomegranate peel extract gel, UVB



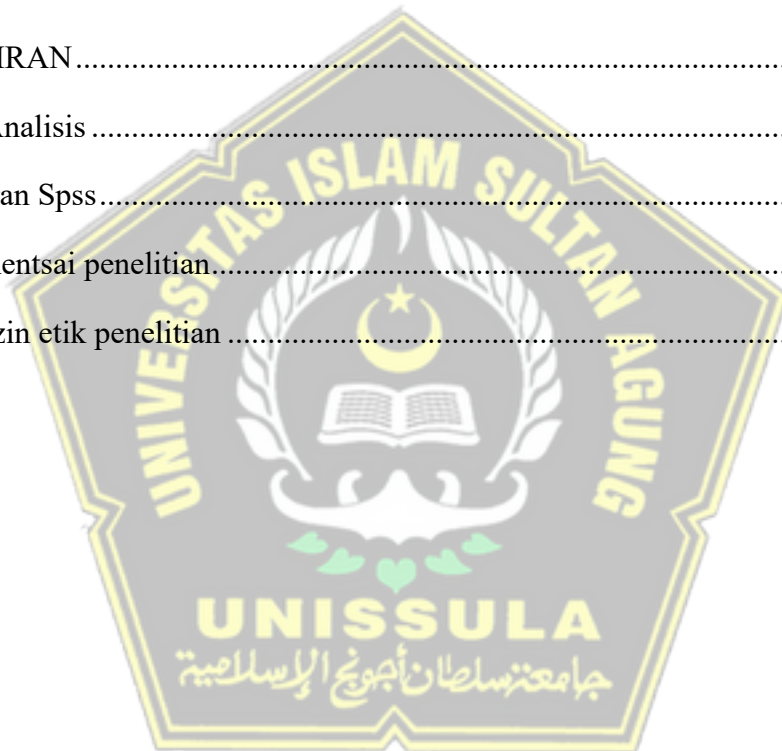
DAFTAR ISI

	Halaman
TESIS	ii
KATA PENGANTAR	iii
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR SINGKATAN	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah Penelitian	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Teoritis	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
1.5 Originalitas Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1. Paparan Sinar ultraviolet (UV) pada kulit	29
2.1.1 Inflamasi kulit akibat paparan ultraviolet B (UV-B)	30
2.2. Ekspresi CD163	8
2.2.1. Struktur CD163	8

2.2.2. Ekspresi dan Regulasi CD163	9
2.2.3. Ekspresi CD163 pada inflamasi	11
2.2.4 Faktor yang dapat mempengaruhi Ekspresi CD163	13
2.2.5 Analisis Ekspresi CD163 Metode PCR	14
2.3. <i>Interleukin-10</i> (IL-10)	15
2.3.1 Struktur IL-10	15
2.3.2 Aktivasi dan fungsi IL-10	16
2.3.3 Analisis kadar IL-10 dengan metode ELISA	19
2.3.4 Faktor yang dapat mempengaruhi kadar IL-10	21
2.4 Gel Ekstrak Kulit Delima (<i>Punica granatum</i>)	23
2.4.1 Taksonomi tanaman delima	23
2.4.2 Kandungan antioksidan pada kulit delima	24
2.4.3 Kandungan yang terdapat pada kulit delima	26
2.4.4 Manfaat ekstrak kulit delima	27
2.4.5 Kelebihan gel ekstrak kulit delima	28
2.5 Pengaruh gel ekstrak kulit delima terhadap ekspresi CD163 dan kadar IL-10 akibat paparan sinar UV-B	29
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS	35
3.1 Kerangka teori	35
3.2 Kerangka Konsep	39
3.3 Hipotesis	39
BAB IV METODE PENELITIAN	40
4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	40
4.2. Populasi dan Sampel	41
4.2.1. Tikus Wistar jantan	41

4.2.2. Jumlah Sampel.....	41
4.3. Variabel dan Definisi Operasional	42
4.3.1. Variabel.....	42
4.3.2. Definisi Operasional	42
4.4 Bahan atau Materi Penelitian	44
4.5 Peralatan	44
4.6 Cara Penelitian dan Alur kerja	45
4.6.1 <i>Ethical Clearance</i>	45
4.6.2 Cara Pembuatan Ekstrak kulit delima.....	45
4.6.3 Pembuatan Sediaan gel ekstrak kulit delima (EKD)	45
4.6.4 Persiapan Hewan Uji	46
4.6.5 Paparan UV-B dan Pemberian Gel Ekstrak Kulit Delima (EKD)	47
4.6.6 Pengambilan Sampel Jaringan	47
4.6.7 Prosedur Validasi Jaringan Kulit dengan pewarnaan <i>Masson's Trichrome</i>	48
4.6.8 Proses ekstraksi RNA dan sintesis cDNA untuk ekspresi CD163.	49
4.6.9 Analisis Ekspresi CD163 metode RTq-PCR.....	51
4.6.10 Proses preparasi jaringan untuk pemeriksaan ELISA	51
4.6.11 Analisis kadar IL-10 metode ELISA	52
4.7 Analisis Hasil	54
4.8 Tempat dan Waktu Penelitian	54
4.9 Alur Penelitian.....	55
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	56
5.1 Hasil Penelitian.....	56
5.1.1 Hasil validasi pewarnaan <i>Masson's Trichrome</i>	56

5.1.2 Hasil analisis ekspresi CD163	58
5.1.3 Hasil analisis kadar IL-10	61
5.1 Pembahasan	63
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	68
6.1. Kesimpulan.....	68
6.2. Saran	68
DAFTAR PUSTAKA	69
LAMPIRAN	77
Hasil Analisis	77
Lampiran Spss.....	80
Dokumentsai penelitian.....	87
Surat Izin etik penelitian	88



DAFTAR SINGKATAN

APC	: <i>Antigen presenting cells</i>
Bregs	: <i>Regulatory B cells</i>
COX	: <i>Cyclooxygenase</i>
COX-2	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
CSIF	: <i>Cytokine synthesis inhibitory factor</i>
Dcregs	: <i>Regulatory dendritic cells</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
ELISA	: <i>Enzyme-linked immuno sorbent assay</i>
EKD	: <i>Ektrak Kulit Buah Delima</i>
GATA-3	: <i>GATA binding protein 3</i>
Hb	: <i>Hemoglobin</i>
Hp	: <i>Haptoglobin</i>
IL-10	: <i>Interleukin-10</i>
IFN- γ	: <i>Interferon gamma</i>
LOX	: <i>Lipoxygenase</i>
LPS	: <i>Lipopolisakarida</i>
MDSCs	: <i>Myeloid-derived suppressor cells</i>
MHC II	: <i>Major histocompatibility complex class II</i>
NASH	: <i>Non-alcoholic steatohepatitis</i>
OD	: <i>Optical density</i>
PBMC	: <i>Peripheral blood mononuclear cells</i>
PG	: <i>Prostaglandin</i>
PGE2	: <i>Prostaglandin E2</i>
PRE	: <i>Pomegranate rind extract</i>
RNA	: <i>Ribonucleic acid</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
SrcR	: <i>Scavenger receptor cysteine rich</i>
STAT3	: <i>Signal transducer and activator of transcription 3</i>
TAM	: <i>Tumor-associated macrophage</i>
TGF- α	: <i>Transforming growth factor alpha</i>
TGF- β	: <i>Transforming growth factor-beta</i>
TLRs	: <i>Toll-like receptors</i>
TNF- α	: <i>Tumor necrosis factor alpha</i>
TPT	: <i>Total pomegranate tannins</i>
Treg	: <i>Regulatory T cells</i>
UV-A	: <i>Ultraviolet A</i>
UV-B	: <i>Ultraviolet B</i>
VEGF	: <i>Vascular endothelial growth factor</i>

12-*HETE* : 12-hydroxyeicosatetraenoic



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Isoform transmembran CD163.....	8
Gambar 2.2 Mekanisme aktivasi IL-10.....	17
Gambar 2.3 Kandungan pada kulit buah delima.....	26
Gambar 2.4 Penetrasi UV ke dalam kulit. ²¹	30
Gambar 3.1 Kerangka Teori.....	38
Gambar 3.2 Kerangka Konsep	39
Gambar 4.1 Skema rancangan penelitian.....	40
Gambar 4.2 Skema Alur Penelitian.....	55
Gambar 5.1 Histologi jaringan kulit dengan pewarnaan <i>Masson's Trichrome</i> tiap kelompok pada mikroskop perbesaran 400x	57
Gambar 5.2 Grafik histogram rata-rata ekspresi CD163 (CD163 mRNA relative expresion (x)).....	60
Gambar 5.3 Grafik histogram rata-rata kadar IL-10 pada 5 kelompok (pg/mL) ..	62

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian.....	5
Tabel 5.1 Hasil penelitian ekspresi CD163.....	59
Tabel 5.2 Hasil uji <i>Post hoc LSD</i> ekspresi CD163 antar kelompok penelitian.....	59
Tabel 5.3 Hasil penelitian kadar IL-10	61
Tabel 5.4 Hasil uji <i>Mann Whitney</i> kadar IL-10 jaringan kulit tikus dengan luka iris	62



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Paparan UVB yang berulang memicu stres oksidatif, peradangan, dan banyaknya kerusakan kulit. Mekanisme utama dari photoaging melibatkan kerusakan kolagen dan elastin di dermis, serta gangguan pada proses regenerasi sel kulit.^{1,2} Paparan UV-B menimbulkan gejala klinis *photoaging*, meningkatnya inflamasi kronis (*inflammaging*) mempercepat degradasi kolagen dan elastin, menyebabkan kulit menjadi tipis dan kendur.³ Ekspresi CD163 dan IL-10 yang lebih tinggi dapat membantu mengurangi inflamasi serta stres oksidatif, sehingga berpotensi memperlambat penuaan kulit dan mendukung regenerasi jaringan.⁴ Penggunaan sediaan topikal yang dioleskan langsung pada permukaan kulit seperti Vitamin C, Retinoid, dan *Niacinamide*, telah menjadi salah satu terapi yang umum digunakan untuk mengatasi tanda-tanda penuaan kulit akibat paparan sinar matahari (*photoaging*). Namun, penggunaannya dapat menimbulkan efek samping, terutama pada kulit sensitif, menyebabkan iritasi, kemerahan, atau sensasi terbakar.⁵ Alternatif penggunaan herbal yang dapat mengurangi dengan meminimalkan efek samping salah satunya adalah kulit delima. Kulit delima memiliki berbagai macam senyawa, termasuk polifenol, alkaloid, dan vitamin dengan sifat ampuh menangkal radikal bebas.⁶

Paparan sinar UVB pada kulit memicu pembentukan senyawa *Reactive Oxygen Species* (ROS), yang kemudian meningkatkan stres oksidatif. Stres oksidatif ini menyebabkan kerusakan DNA dan memicu respons peradangan pada kulit.⁷ *Cluster*

of Differentiation 163 (CD163) merupakan marker makrofag M2 yang berperan dalam respons antiinflamasi dan perbaikan jaringan, CD163 memainkan peran penting dalam perlindungan terhadap kerusakan jaringan, diekspresikan pada monosit yang bersirkulasi pada makrofag jaringan, tingkat CD163 yang tinggi terdeteksi pada monosit yang menginfiltrasi selama fase resolusi reaksi inflamasi. Ekspresi CD163 diatur oleh mediator anti-inflamasi yang sangat kuat.⁸ Selanjutnya, peradangan merangsang perluasan sel-sel imunosupresif di kulit, Perluasan *regulatory T cells* (Treg), *myeloid-derived suppressor cells* (MDSCs), *regulatory B cells* (Bregs), dan *regulatory dendritic cells* (DCregs) meningkatkan aktivitas imunosupresif di kulit. sel imunosupresif mengeluarkan sitokin antiinflamasi, seperti IL-10 dan TGF- β , Peradangan dan imunosupresi menyebabkan perubahan degeneratif pada kulit yang memicu keadaan photoaging.⁷ Ekspresi IL-10 mengalami peningkatan regulasi sebagai respons terhadap UVB yang peran penting dalam respons anti-inflamasi.⁹

Tubuh memproduksi sitokin anti-inflamasi seperti IL-10 untuk mengurangi peradangan dan membantu proses regenerasi jaringan. Selain itu, CD163, yang merupakan marker dari makrofag tipe M2 (anti-inflamasi), berperan penting dalam resolusi peradangan dan pemulihan jaringan. Namun, paparan UVB yang berlebihan dapat menurunkan kadar IL-10 dan ekspresi CD163, sehingga memperlambat proses penyembuhan kulit dan memperburuk kerusakan akibat paparan sinar matahari.^{10,11} Penggunaan ekstrak kulit delima secara oral dilaporkan dapat menurunkan kadar IL6 serta dapat meningkatkan *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan jumlah kolagen pada tikus *Sprague Dawley* jantan yang mengalami luka bakar derajat dua.¹²

Secara *in vitro* dilaporkan sediaan masker wajah bentuk gel *peel-off* Stabilitas pH dan viskositas dari sediaan masker wajah terbaik pada konsentrasi ekstrak kulit delima 10%.¹³ Meski efek antioksidan dan anti-inflamasi ekstrak kulit delima telah diteliti, studi mengenai pengaruhnya terhadap ekspresi CD163 dan kadar IL-10, khususnya dalam konteks photoaging akibat UVB, masih sangat terbatas.

Aktivitas antioksidan delima telah dikaitkan dengan adanya beberapa komponen seperti asam askorbat dan senyawa fenolik, termasuk punicalagin, punicalin, asam galat, asam ellagic, dan antosianin yang menunjukkan sifat ampuh menangkal radikal bebas.⁶ Penggunaan gel ekstrak kulit buah delima dilaporkan mempunyai potensi sebagai pendekatan baru dalam memperbaiki penyakit peradangan dan nyeri yang berhubungan dengan berbagai kondisi kulit.¹⁴ Penggunaan gel merupakan pilihan tepat dibandingkan dengan perawatan kulit atau transdermal. Sifat gel yang membangun jaringan dengan menghubungkan partikel-partikel, memiliki efek penyembuhan yang menjanjikan, gel memiliki potensi yang lebih baik sebagai sistem penghantaran obat yang dioleskan karena kuat, tidak lengket, dan memiliki daya tarik estetika.¹⁵ Penelitian ini akan menganalisis tentang pengaruh sediaan gel ekstrak kulit buah delima dosis 10% dan 20% pada tikus *Wistar* yang dipapar sinar UV-B, serta pengaruhnya terhadap ekspresi CD163 dan kadar IL-10.

1.2 Rumusan Masalah Penelitian

Adakah pengaruh pemberian gel ekstrak kulit buah delima terhadap ekspresi CD163 dan kadar IL-10 pada tikus jantan galur *Wistar* yang dipapar sinar UV-B?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian gel ekstrak kulit buah delima terhadap ekspresi CD163 dan kadar IL-10 pada tikus jantan galur *Wistar* yang dipapar sinar UV-B

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui perbedaan ekspresi CD163 antar kelompok yang diberikan gel ekstrak kulit buah delima dosis 10% dan 20% dengan kelompok yang diberikan gel vitamin C
- b. Untuk mengetahui perbedaan kadar IL-10 antar kelompok yang diberikan gel ekstrak kulit buah delima dosis 10% dan 20% dengan kelompok yang diberikan gel vitamin C

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Untuk memberikan literasi tambahan tentang manfaat gel ekstrak kulit buah delima terhadap perbaikan kulit akibat paparan UVB dan pengaruhnya terhadap ekspresi CD163 dan kadar IL-10, serta sebagai referensi untuk penelitian lebih lanjut.

1.4.2 Manfaat Praktis

Manfaat secara praktis dari penelitian ini memberikan sumber informasi tentang potensi ekstrak kulit buah delima dalam memperbaiki kerusakan kulit akibat paparan UVB sehingga dapat dilakukan penelitian tahap

berikutnya.

1.5 Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

Peneliti	Judul	Metode	Hasil Penelitian
Sangkota R, Husaana A, Chodidjah C. ¹²	<i>The Effect of Pomegranate Peel Extract on Collagen Total, Interleukin-6 and Vascular Endothelial Growth Factor Receptor (VEGF) Levels.</i>	Eksperimen, <i>in vivo</i>	Pemberian ekstrak kulit buah delima dosis 54, 108, 162 mg/200 g BB dapat menurunkan kadar IL-6, meningkatkan VEGF, dan meningkatkan jumlah kolagen tikus Sprague Dawley jantan yang diberi luka bakar derajat dua.
Wattimena JH, Darsono FL HL. ¹³	<i>The Formulation of Pomegranate Peel Fruit (Punica granatum L.) in Peel-Off Face Mask Gel.</i>	Experimen, <i>In Vitro</i>	Peningkatan konsentrasi ekstrak kering kulit buah delima (<i>Punica granatum L.</i>) secara signifikan mempengaruhi hasil uji. Hasil uji mencakup mutu fisik sediaan, yaitu pH, viskositas, dan daya sebar; efektivitas sediaan, yaitu waktu kering, kekencangan masker, elastisitas lapisan film, dan kemudahan untuk dibersihkan; dan stabilitas sediaan, yaitu stabilitas pH dan viskositas dari masker wajah gel peel-off. Sediaan dengan konsentrasi ekstrak 10% adalah yang terbaik.
Čolić M, Bekić M, Tomić S, et al. ¹⁶	<i>Immunomodulatory Properties of Pomegranate Peel Extract in a Model of Human Peripheral Blood Mononuclear Cell Culture.</i>	Eksperimen, <i>in vivo</i>	Pomegranate peel extract (PoPEX) meningkatkan respons Th2 (IL-5 dan IL-13) dan Treg (IL-10) serta frekuensi sel CD4+CD25hiFoxp3+. Konsentrasi PoPEX yang lebih tinggi meningkatkan frekuensi sel T yang memproduksi IL-10 dan TGF- β (jauh lebih tinggi pada subset CD4+), menunjukkan efek imunoregulasi kompleks PoPEX pada sel T, yang dapat membantu menekan penyakit inflamasi kronis dan autoimun.
Houston DMJ, Bugert J, Denyer SP,	<i>Anti-inflammatory activity of Punica granatum L. (Pomegranate)</i>	Eksperimen, <i>in vivo</i>	Aplikasi topikal <i>total pomegranate tannins</i> (TPT) dan <i>pomegranate rind extract</i> (PRE) mempunyai efek anti-inflamasi yang signifikan pada kulit ex

Heard CM. ¹⁴	<i>rind extracts applied topically to ex vivo skin.</i>		<i>vivo</i> , memastikan bahwa PRE menembus kulit dan memodulasi regulasi COX-2 pada epidermis yang aktif. Kulit delima mempunyai potensi sebagai pendekatan baru dalam memperbaiki penyakit peradangan dan nyeri yang berhubungan dengan berbagai kondisi kulit, termasuk luka dingin dan keratitis stroma herpes.
Nayak BS, Sandiford S, Maxwell A. ¹⁷	<i>Evaluation of the wound-healing activity of ethanolic extract of Morinda citrifolia L. leaf.</i>	Experim ental, In Vivo	Ekstrak kulit delima tidak menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap mikroorganisme yang diuji. <i>Punica granatum</i> mendorong penyembuhan luka yang signifikan pada tikus dan disarankan untuk melakukan evaluasi lebih lanjut terhadap aktivitas ini pada manusia.

Penelitian terdahulu oleh Sangkota menggunakan subjek tikus *Sprague Dawley* jantan yang diberikan luka bakar derajat II dan diberikan ekstrak kulit buah delima dengan dosis 54, 108, 162 mg/200 g BB. Pada hari ke 3 dilakukan pemeriksaan IL-6 dan pada hari ke 7 dilakukan pemeriksaan VEGF dan jumlah kolagen.¹² Penelitian oleh Houston untuk menentukan aktivitas anti-inflamasi dan kedalaman penetrasi relatif PRE, total tanin delima (TPT) dan seng (II) pada kulit, *ex vivo*. PRE, TPT dan ZnSO₄ dimasukkan ke dalamnya kulit babi *ex vivo* yang baru dipotong dipasang di sel difusi Franz dan dianalisis COX-2, sebagai penanda untuk modulasi jalur peradangan asam arakidonat, dengan Western blotting dan imunohistokimia.¹⁴ Penelitian oleh Čolić melakukan pengobatan sel mononuklear darah tepi manusia (PBMC) dengan PoPEx (kisaran 6,25–400 µg/mL). Pada konsentrasi non-sitotoksik, efek sebaliknya pada proses ini diamati secara bersamaan dengan penghambatan proliferasi PBMC yang diinduksi PHA dan penurunan ekspresi CD4 yang signifikan. PoPEx secara berbeda memodulasi ekspresi penanda aktivasi (CD69, CD25, ICOS)

dan PD1 (penanda penghambatan), tergantung pada dosis dan subset sel T. PoPEX (mulai dari 12,5 $\mu\text{g/mL}$) menekan produksi Th1 (IFN- γ), Th17 (IL-17A, IL-17F, dan IL-22), Th9 (IL-9), dan sitokin proinflamasi (TNF- α dan IL-6) dalam supernatan kultur.¹⁶

Penelitian terdahulu oleh Wattimena untuk melihat pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak kering kulit buah delima terhadap mutu fisik, efektivitas dan keamanan sediaan masker wajah dalam bentuk gel *peel-off*. Konsentrasi yang digunakan adalah 10%, 15% dan 20%.¹³ Penelitian oleh Nayak menggunakan Ekstrak kulit buah *P. granatum* diuji aktivitas penyembuhan luka pada tikus menggunakan model luka eksisi, kelompok eksperimen diberi obat *P. granatum* secara topikal dengan dosis 100 mg/kg setiap hari selama 15 hari, sedangkan hewan kelompok kontrol dan standar masing-masing diberi petroleum jelly dan salep mupirocin. Area luka diukur secara bergantian hari (1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, dan 15) menggunakan lembar transparansi dan spidol permanen. Rekaman area luka diukur dengan menggunakan kertas grafik. Hari eschar jatuh setelah luka, tanpa sisa luka mentah, dianggap sebagai periode epitelisasi.¹⁷ Berbeda dengan beberapa penelitian diatas, penelitian ini akan melakukan pemberian gel ekstrak kulit delima selama 7 hari pada subjek tikus yang diinduksi sinar UV-B, kemudian dilakukan analisis ekspresi CD163 dan kadar IL-10.

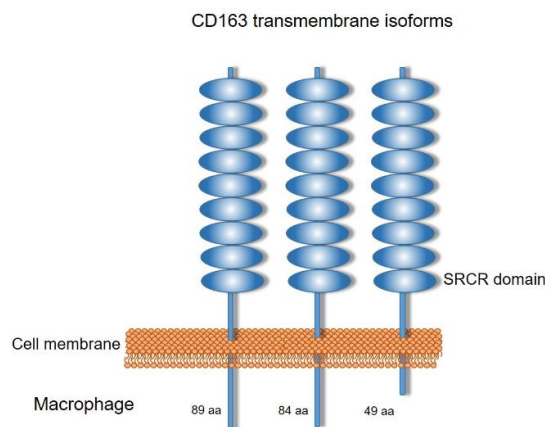
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ekspresi CD163

2.1.1. Struktur CD163

CD163 adalah protein transmembran 130-kDa, tipe I yang diekspresikan terutama pada monosit dan makrofag tipe M2 (anti-inflamasi). Molekul ini adalah anggota dari famili *reseptor scavenger cysteine-rich* (SRCR). Isoform CD163 terdiri dari tiga varian dengan panjang ekor sitoplasma yang berbeda, serta paling banyak bentuk ekor pendek (42 asam amino). Semua varian mengandung motif internalisasi umum dan menunjukkan aktivitas endositosis. *Scavenger Receptor Cysteine-Rich* (SRCR) adalah domain 100–110 asam amino umum untuk interaksi molekuler dan dengan lipatan struktural yang ditentukan dari enam atau tujuh lembar- β yang membungkus heliks- α . Domain kelas A dan kelas B SRCR memiliki lipatan yang sama dan hanya berbeda dengan adanya ikatan disulfida tambahan di domain kelas B. Sementara domain kelas A SRCR sebagian besar hadir sebagai domain tunggal dalam protein domain mosaik yang berbeda.¹⁰



Gambar 2.1 Isoform transmembran CD163

Skematis dari tiga isoform transmembran CD163. Ketiganya berbeda dalam panjang domain intraseluler, dengan isoform 49 asam amino yang memiliki ekspresi dominan.²⁹

Domain kelas B sebagian besar hadir sebagai protein membran pengulangan tandem yang hanya mengandung motif struktural jenis ini di ektodomain. Protein membran keluarga SRCR kelas B manusia CD163, CD163b, CD5, CD6, dan Scart1. CD163b, yang memiliki gen pengkode yang terletak dekat dengan gen CD163 pada kromosom 12 dan merupakan homolog terdekat dengan CD163. Kesamaan dalam hal distribusi jaringan, regulasi, dan kemampuan endositosis meskipun tampaknya memiliki repertoar ligan lain yang belum didefinisikan. Beberapa domain SRCR CD163 mengandung situs konsensus untuk pengikatan kalsium, dan pengikatan kompleks Hp-Hb, serta beberapa antibodi, menunjukkan pengikatan yang bergantung pada kalsium. Pengikatan kalsium peka terhadap pH dan oleh karena itu struktur pengikat kalsium disarankan sebagai komponen struktural penting untuk pelepasan ligan setelah internalisasi. Dengan demikian, domain SRCR pengikat kalsium 3 dari CD163 telah terbukti penting untuk pengikatan Hb-Hp ke CD163.¹⁰

2.1.2. Ekspresi dan Regulasi CD163

Ekspresi CD163 pada manusia terutama ditemukan pada sel monosit-makrofag, seperti makrofag sumsum tulang, sel Kupffer di hati, dan makrofag paru. Sel turunan monosit lainnya menunjukkan ekspresi CD163 yang rendah atau tidak ada. Beberapa faktor mengatur ekspresi CD163 secara *in vitro*, dengan glukokortikoid, IL-6, *interleukin 10* (IL-10), dan heme/Hb sebagai stimulator

utama. Sebaliknya, *interleukin 4* (IL-4), LPS, TNF- α , IFN- γ , *C-X-C motif chemokine ligand 4* (CXCL4), dan faktor perangsang koloni granulosit-makrofag menurunkan ekspresi CD163.¹⁰

CD163 awalnya diidentifikasi dalam dua laporan independen, menggunakan antibodi monoklonal sebagai antigen spesifik monosit-makrofag yang tidak diketahui yang terkait dengan proses anti-inflamasi. CD163 diidentifikasi sebagai "reseptor pemulung hemoglobin (Hb)" HbSR untuk penyerapan Hb yang dilepaskan ke dalam plasma dan dikomplekskan menjadi haptoglobin (Hp) selama hemolisis intravaskular. Meskipun fungsi ini tampak berbeda dari peran imunologis langsung, fungsi ini sepenuhnya sesuai dengan struktur, ekspresi spesifik makrofag, dan regulasi.¹⁰

CD163 membantu mengurangi stres oksidatif dengan mengikat kompleks hemoglobin-haptoglobin, mencegah akumulasi hemoglobin bebas yang dapat memperburuk kerusakan jaringan. Ekspresi CD163 membantu menyeimbangkan respon inflamasi melalui peningkatan aktivitas makrofag M2, mengurangi inflamasi kronis yang berkontribusi pada penuaan kulit. CD163 mendukung penyembuhan luka dengan mempromosikan regenerasi jaringan dan remodelling kolagen, dalam photoaging, penurunan CD163 mengurangi kemampuan kulit untuk memperbaiki jaringan yang rusak akibat UVB. Paparan UVB kronis dapat menurunkan ekspresi CD163 pada makrofag kulit. Penelitian menunjukkan bahwa sinar UVB meningkatkan produksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α dan IL-1 β , yang dapat menekan ekspresi CD163. Penurunan ini mengurangi kapasitas anti-inflamasi makrofag, memperparah kerusakan kulit akibat photoaging.

2.1.3. Ekspresi CD163 pada inflamasi

Makrofag adalah sel fagositik heterogen dari sistem imun bawaan dengan plastisitas fungsional luar biasa di luar imunitas bawaan. Misalnya, makrofag sangat penting untuk pemeliharaan homeostasis, morfogenesis organ, remodeling jaringan dan perbaikan serta regulasi peradangan.³⁰

Sitokin anti-inflamasi IL-10 meningkatkan ekspresi CD163, sementara IL-4, TNF- α , IFN- γ , dan LPS mengurangi ekspresinya. Lebih jauh, LPS telah terbukti mengaktifkan ADAM17 yang memediasi pelepasan CD163 dari permukaan sel yang membentuk CD163 terlarut (sCD163) yang terdapat dalam plasma dan cairan jaringan lainnya. Populasi makrofag CD163+ telah dikaitkan dengan fungsi anti-inflamasi karena ekspresi yang terstimulasi oleh sitokin anti-inflamasi dan kemampuannya untuk menghasilkan metabolit heme anti-inflamasi setelah pemulungan hemoglobin yang dimediasi CD163.

Respons antiinflamasi terhadap artritis yang diinduksi kolagen terhambat pada tikus yang kekurangan CD163 dibandingkan dengan tikus yang mengekspresikan CD163 yang menunjukkan peran penting CD163 dalam membatasi perkembangan dan regresi artritis. Selain itu, CD163 juga dilaporkan mengikat dan mendegradasi *TNF-related weak inducer of apoptosis* (TWEAK), serta mengenali dan memediasi respons imun lokal terhadap bakteri dan menginternalisasi virus. CD163 sering digunakan sebagai penanda M2 meskipun tampak jelas bahwa hanya sebagian kecil M2 yang merupakan CD163+, sehingga pada dasarnya subpopulasi CD163+ yang berbeda dapat didefinisikan.³⁰

sCD163 adalah penanda aktivasi makrofag dan telah dikaitkan dengan

sejumlah penyakit inflamasi.³⁰ Mekanisme patologis peradangan meliputi beberapa jenis sel efektor leukosit (monosit-makrofag, limfosit T, dan granulosit) dan interaksi sel imun yang kompleks seperti antara makrofag dan sel T pembantu. Makrofag yang mengekspresikan CD163 merupakan target terapi yang menarik karena makrofag CD163 hadir di lokasi peradangan, memiliki fungsi antiinflamasi secara keseluruhan, juga memproduksi sitokin inflamasi, seperti TNF- α . Sitokin ini sebagian besar diproduksi oleh makrofag dan kemanjuran obat biologis anti-TNF- α , menunjukkan bahwa makrofag merupakan target yang jelas untuk terapi antiinflamasi.¹⁰

Ekspresi CD163 meningkat pada sejumlah penyakit.³⁰ Penelitian menunjukkan bahwa makrofag CD163+ berperan dalam respons inflamasi dan terlibat dalam proses penuaan kulit yang terkait dengan inflamasi seperti psoriasis.^{31,30} Penelitian menemukan bahwa CD163 diekspresikan pada histiosit di berbagai jaringan normal dan neoplastik. Meskipun tidak secara spesifik meneliti penuaan kulit, temuan ini memberikan wawasan tentang distribusi CD163 pada jaringan kulit.²⁸ Studi ini menunjukkan bahwa jumlah sel CD163+ meningkat pada lesi kulit kondisi seperti *Cutaneous T-Cell Lymphoma* (CTCL), Dermatitis Atopik (AD), dan Psoriasis dibandingkan dengan kulit normal. Meskipun fokusnya bukan pada penuaan, hasil ini memberikan informasi tentang peran CD163 dalam kondisi kulit inflamasi yang mungkin berkaitan dengan proses penuaan.³² Meskipun penelitian langsung yang mengaitkan CD163 dengan proses penuaan kulit masih terbatas, studi-studi di atas memberikan wawasan tentang distribusi dan peran CD163 dalam berbagai kondisi kulit. Diperlukan

penelitian lebih lanjut untuk memahami secara spesifik bagaimana CD163 berperan dalam mekanisme penuaan kulit.

2.1.4 Faktor yang dapat mempengaruhi Ekspresi CD163

Ekspresi CD163 pada jaringan kulit yang terpapar sinar UVB dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk intensitas dan durasi paparan, di mana paparan yang tinggi dan berkepanjangan dapat meningkatkan stres oksidatif serta inflamasi yang mempengaruhi aktivasi makrofag. UVB juga meningkatkan produksi Reactive Oxygen Species (ROS), yang mengubah mikro lingkungan jaringan dan menginduksi ekspresi CD163 sebagai respons terhadap kerusakan sel. Selain itu, sistem antioksidan dan antiinflamasi, seperti *Superoxide Dismutase* (SOD) dan *Glutathione Peroxidase* (GPx), berperan dalam regulasi ekspresi CD163 dengan mengurangi dampak stres oksidatif akibat UVB. Sitokin antiinflamasi, seperti IL-10, dapat meningkatkan ekspresi CD163 pada makrofag M2, sementara sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6 dapat menekan ekspresinya atau mengarahkan makrofag ke fenotipe proinflamasi (M1). Faktor transkripsi juga berperan, di mana aktivasi STAT3 mendukung ekspresi CD163 melalui jalur antiinflamasi, sedangkan NF- κ B, yang diaktifkan akibat paparan UVB, dapat menghambat peralihan makrofag ke fenotipe M2 dan menurunkan ekspresi CD163. Selain itu, kondisi mikro lingkungan jaringan, seperti hipoksia, kadar lipid, dan keberadaan hemoglobin bebas, turut mempengaruhi ekspresi CD163 karena protein ini berperan dalam pembersihan hemoglobin dan perbaikan jaringan. Terakhir, senyawa bioaktif seperti ekstrak kulit delima (punicalagin, flavonoid), vitamin C, dan niacinamide memiliki efek antiinflamasi serta

antioksidan yang dapat meningkatkan ekspresi CD163 dan mendukung regenerasi kulit setelah paparan UVB.^{10,29,30}

2.1.5 Analisis Ekspresi CD163 Metode PCR

PCR adalah pengujian enzimatik yang sederhana namun elegan, yang memungkinkan amplifikasi fragmen DNA tertentu dari kumpulan DNA yang kompleks.

Total RNA sel diisolasi dari sampel sel menggunakan Trizol dan ditranskripsi balik menjadi cDNA dengan PrimeScript™ 1st Strand cDNA Synthesis Kit sesuai dengan protokol pabrik pembuatnya. Q-PCR dilakukan dengan TB Green® Premix Ex Taq™ dalam pelat 96-well menggunakan sistem deteksi PCR real-time 7500. Semua reaksi dilakukan dalam rangkap tiga. Ekspresi relatif dihitung menggunakan metode $2^{-\Delta\Delta C_t}$, dengan β -aktin sebagai kontrol internal, primer yang digunakan untuk Q-PCR.³³

Metode lainnya yang dapat digunakan untuk menilai ekspresi CD163 yaitu dengan pewarnaan imunohistokimia, metode ini mendeteksi protein spesifik dalam jaringan yang telah diawetkan dan disiapkan dalam slide. IHC memanfaatkan antibodi yang sangat spesifik terhadap antigen target, mendeteksi protein dengan presisi tinggi di dalam jaringan. Dengan penggunaan teknik seperti antigen retrieval, IHC dapat mendeteksi protein yang sebelumnya tidak dapat dideteksi dalam jaringan yang telah difiksasi. IHC telah menjadi alat yang tidak tergantikan dalam patologi diagnostik, investigatif, dan toksikologis, berkat kemajuan metodologi. IHC adalah teknik yang digunakan IHC dilakukan menggunakan uji super Elivision untuk mendeteksi ekspresi CD163 pada sampel

jaringan patologis.

2.2. Interleukin-10 (IL-10)

2.2.1 Struktur IL-10

IL-10 merupakan mediator protein yang terdiri atas 3 polipeptida 178 asam amino, berat molekul antara 17kD, 18kD, 19kD dan 20kD yang terukur dengan menggunakan analisis elektroforesis. IL-10 merupakan sitokin anti-inflamasi dalam sistem imun. IL-10 berfungsi inhibitor kuat terhadap produksi sitokin oleh Th1 termasuk IL-2 dan IFN γ . Berfungsi menghambat dan menghilangkan inflamasi, selain mengendalikan perkembangan dan diferensiasi sel B, sel NK, sel Th, sel CD8, mastosit, granulosit, sel dendrit keratinosit dan sel endotelial. IL-10 merupakan protein yang berfungsi sebagai mediator peptida yang dihasilkan oleh sel suatu reaksi imunologik, berfungsi sebagai pengkodean/signal intraseluler antar sel dalam pengaturan respon inflamasi lokal maupun sistemik.³⁴

IL-10 merupakan sitokin yang banyak disekresi oleh monosit, yang memiliki efek pleiotrofik pada sistem kekebalan dan peradangan. Pertama kali IL-10 dikenal karena kemampuannya untuk menghambat aktivasi dan fungsi efektor dari sel T, monosit dan makrofaga. IL-10 menghambat atau meniadakan respon peradangan, mengendalikan perkembangan dan diferensiasi sel B, sel NK, sel T_H, sel T CD8, mastosit, granulosit, sel dendritik, keratinosit dan sel endotelial, dan bersifat imunosupresif terhadap sel mieloid.³⁵ Sitokin tipe II, termasuk IL-19, IL-20, IL-22, IL-26, dan IL-29, sama dengan IL-10. Meskipun mereka berikatan dengan komponen reseptor yang sama dan mempunyai fungsi biologis yang berbeda, semua sitokin ini mempunyai struktur gen yang teratur.³⁶ IL-10 adalah

sitokin anti inflamasi, reseptor IL-10 terdiri atas IL-10 protein reseptor 1 dan IL-10 protein reseptor 2. JAK1 dan Tyk2 masing-masing memicu sinyal STAT3 sebagai respons terhadap reaksi IL-10.³⁷ Panjang protein IL-10 adalah 178 asam amino.³⁸ Sitokin kelas 2, yang meliputi IL-10, dibagi menjadi beberapa kelompok berikut: interferon tipe-I (IFN-alpha, beta, epsilon, kappa, dan omega), tipe-II (IFN-gamma), dan tipe-III (IFN-lambda).³⁹ Selain itu dikenal sebagai IL-29, IL-28A, dan IL-28B.⁴⁰

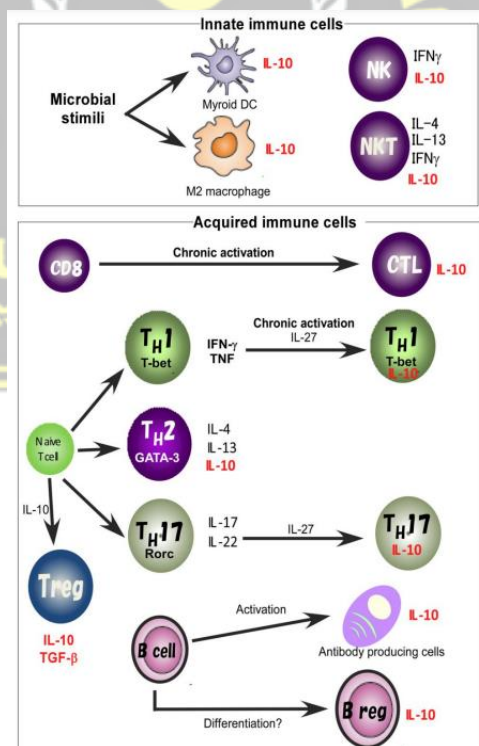
Patofisiologi beberapa kelainan dipengaruhi oleh sitokin antiinflamasi IL-10. Meskipun IL-10 pertama kali diidentifikasi sebagai sitokin yang dihasilkan dari T helper (TH2), penelitian mengungkapkan bahwa IL-10 dilepaskan oleh sel imunitas bawaan, seperti Th17, serta sel T dan B dari sistem imun adaptif selama peradangan kronis, bertindak sebagai umpan kembalinya sistem regulasi.⁴¹

2.2.2 Aktivasi dan fungsi IL-10

IL-10 disekresi oleh banyak sel imun yang didapat seperti sel Th1, Th2 Th17, sel Treg, sel T CD8+ dan sel B. Berbagai faktor transkripsi, termasuk GATA-3, E4BP4, MAF, Blimp1, dan lainnya, bekerja sama untuk mengontrol produksi IL10 dalam sel T dan sel B pada tingkat yang bervariasi berdasarkan fase perkembangan.⁴¹ Ekspresi gen IL10 bersifat lunak dan fleksibel. Plastisitas ini secara selektif ditunjukkan pada sel pembantu inflamasi tipe T, sel TH1 dan TH17, dan kadang-kadang dapat diatur oleh stimulasi antigenik yang berkelanjutan oleh sitokin lingkungan tertentu, seperti IL-27 yang diturunkan dari DC. IL-10 yang diproduksi sel B telah terbukti berfungsi dalam sejumlah model penyakit autoimun dan inflamasi. Seperti halnya sel T, pembuatan Breg dan

produksi IL-10 dalam sel B melibatkan beberapa jalur pensinyalan yang kompleks, seperti jalur BCR dan CD40-CD40L.⁴¹

Sitokin IL-10 bekerja untuk mengurangi berbagai reaksi inflamasi yang disebabkan oleh sel myeloid dan limfoid.⁴² Awalnya, status faktor penghambat sintesis sitokin (CSIF) untuk IL-10 tidak diketahui. Ini dilepaskan oleh sel Th2 dan menghambat kemampuan sel Th1 untuk berdiferensiasi dan berfungsi sebagai efektor.⁴³ Kemampuan untuk menghambat produksi sitokin proinflamasi oleh DC dan makrofag, serta menurunkan regulasi ekspresi MHC II dan molekul kostimulatori CD80 dan CD86 pada sel penyaji antigen (APC), membantu menjelaskan fungsi penghambatannya. Hal ini, pada gilirannya, menyebabkan terhambatnya aktivasi limfosit T.^{42,43}



Gambar 2.2 Mekanisme aktivasi IL-10.

Sel T, monosit, makrofag, neutrofil, eosinofil, sel mast, sel dendritik (DC), sel B, dan sel NK termasuk di antara sel leukosit yang terutama melepaskan IL-10. Selanjutnya, IL-10 diproduksi oleh keratinosit dan sel epitel sebagai respons terhadap infeksi, kerusakan jaringan, dan adanya sel tumor. Sel myeloid yang dipicu oleh *Toll-Like Receptors* (TLRs) memiliki kemampuan untuk melepaskan sitokin inflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , IL-6, dan IFN- γ ; namun, sitokin ini diblokir oleh IL-10. IL-10 adalah penghambat presentasi antigen yang kuat selain menekan sitokin Th1. Sebab, dapat menurunkan ekspresi kompleks histokompatibilitas mayor kelas II (MHC II), CD80 pada makrofag, dan CD86 pada permukaan sel dendritik. Selain itu, IL-10 merangsang pertumbuhan sel B dan produksi antibodi.⁴⁴ Bersamaan dengan meningkatkan pelepasan reseptor TNF, hal ini juga dapat mencegah pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS), sehingga menangkalkan efek TNF- α .⁴⁵

Anggota keluarga reseptor interferon (IFNR α) IL-10R1 (IL-10R1 β) dan IL-10R2 (IL-10R2) membentuk kompleks reseptor IL-10 fungsional, yang secara istimewa terikat dan diaktifkan oleh IL-10 ketika dihasilkan dan dilepaskan.³⁵ Reseptor permukaan sel yang dikenal sebagai IL-10R α memiliki domain transmembran tunggal. Ia memiliki afinitas yang kuat ($K_d \sim 35\text{--}200 \text{ pM}$) untuk IL-10. Sel non-hemopoietik juga menghasilkan IL-10R1 yang dapat diinduksi secara konstitutif, meskipun sebagian besar sel hemopoietik mengekspresikan rantai IL-10R α , yang juga banyak diekspresikan dalam makrofag dan DC. Fibroblas yang dihasilkan oleh lipopolisakarida (LPS) dan sel epidermis atau keratinosit setelah paparan glukokortikoid atau dihidroksi vitamin D3 keduanya

terbukti mengekspresikan IL-10R1.⁴⁶

IL-10 berperan penting dalam mengatur respons imun dan menjaga homeostasis jaringan, pada penuaan kulit, IL-10 membantu menekan produksi sitokin proinflamasi seperti IL-1 β dan TNF- α , yang meningkat akibat paparan UV, dengan mengurangi peradangan, IL-10 dapat mencegah kerusakan lebih lanjut pada jaringan kulit yang menua.⁴⁷ IL-10 berperan dalam fase penyembuhan luka dengan mengurangi peradangan dan mendorong pembentukan jaringan baru. Hal ini penting karena kemampuan penyembuhan luka menurun seiring bertambahnya usia.¹¹ Paparan sinar UV dapat meningkatkan ekspresi IL-10, yang berkontribusi pada imunosupresi lokal di kulit. Meskipun mekanisme ini dapat melindungi terhadap kerusakan inflamasi akut, peningkatan IL-10 yang berlebihan dapat mengganggu fungsi imun kulit dan berpotensi meningkatkan risiko infeksi atau perkembangan kanker kulit pada individu yang menua.⁴⁸

2.2.3 Analisis kadar IL-10 dengan metode ELISA

Metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dilakukan untuk menguji kandungan protein sampel kulit tikus yang diberikan gel ekstrak kulit delima. ELISA adalah teknik molekuler yang digunakan untuk mendeteksi dan mengukur interaksi antara antigen dan antibodi. Prinsip dasar ELISA adalah pengikatan antibodi terhadap antigen yang dimobilisasi dan membentuk kompleks antigen-antibodi. Setelah terjadi reaksi antigen-antibodi maka akan terjadi perubahan warna. Intensitas warna berbanding lurus dengan jumlah antigen yang ada dalam sampel. Sehingga perlu dilakukan pembacaan hasil dengan ELISA Reader berupa *Optical Density* (OD).⁴⁹

Keuntungan dari metode ELISA yaitu kemudahan penggunaan dengan sensitivitas yang tinggi, dan kemampuan untuk memproses dan menganalisis sejumlah besar sampel secara bersamaan atau dalam periode waktu yang singkat.⁵⁰

Beberapa metode lain dapat dilakukan untuk menganalisis kadar IL-10, diantaranya *Western Blot*, *real-time* PCR (RT-qPCR), dan IHC. PCR dapat digunakan untuk mengukur ekspresi gen pada tingkat mRNA, melibatkan amplifikasi dan deteksi sekuens DNA yang spesifik. Pemeriksaan RT-qPCR meliputi ketersediaan peralatan yang luas dan biaya bahan yang rendah, hanya memerlukan informasi genom yang terbatas untuk dapat dilaksanakan, tingkat kesulitan teknis yang rendah, statistik yang sederhana, memungkinkan analisis data yang lebih mudah.⁵¹

IHC memanfaatkan antibodi yang sangat spesifik terhadap antigen target, IHC dapat mendeteksi protein yang sebelumnya tidak dapat dideteksi dalam jaringan yang telah difiksasi. IHC telah menjadi pilihan metode dalam patologi diagnostik, investigatif, dan toksikologis. IHC juga memiliki kekurangan karena banyaknya variabel yang dapat mempengaruhi reproduktivitas, seperti kualitas antibodi, protokol, dan peralatan.⁵²

Western Blot adalah teknik yang digunakan untuk mendeteksi protein spesifik dalam sampel biologis. Teknik ini melibatkan pemisahan protein berdasarkan ukuran menggunakan elektroforesis gel, diikuti oleh transfer protein ke membran dan deteksi menggunakan antibodi yang spesifik. Western blot juga memiliki keterbatasan, terutama dalam hal analisis kuantitatif Variasi dalam

desain eksperimental, metodologi, dan teknik dapat menjadi sumber kesalahan yang signifikan.⁵³

2.2.4 Faktor yang dapat mempengaruhi kadar IL-10

Terdapat dua faktor yang berperan dalam terjadinya penuaan kulit, yaitu faktor intrinsik dan ekstrinsik. Faktor intrinsik adalah genetik, metabolisme sel, dan perubahan hormonal. Selain itu, terdapat faktor ekstrinsik seperti radiasi ultraviolet, inframerah, dan karsinogen lingkungan yang turut berperan pada penuaan kulit.⁵⁴ Terdapat korelasi yang kuat antara peningkatan kadar biomarker inflamasi dan patologi berbagai penyakit. Adanya faktor perancu tertentu seperti variasi usia, jenis kelamin, status sosial-ekonomi, indeks massa tubuh, pengobatan dan penggunaan narkoba lainnya, dan penyakit medis, serta ketidakkonsistenan dalam praktik metodologi seperti pengumpulan sampel, pengujian, dan pembersihan dan transformasi data, dapat berkontribusi terhadap variasi hasil.⁵⁵

Stres oksidatif merupakan mekanisme yang diduga kuat sebagai penyebab utama penuaan kulit. Penuaan kulit merupakan proses kompleks yang melibatkan faktor intrinsik dan ekstrinsik. Faktor intrinsik yang berperan adalah genetik, metabolisme sel, dan perubahan hormonal. Selain itu, terdapat faktor ekstrinsik seperti radiasi ultraviolet, inframerah, dan karsinogen lingkungan yang turut berperan pada penuaan kulit.^{54,56} Pada penuaan kulit secara instrinsik, lapisan epidermis menipis sehingga daerah kontak permukaan dermis dan epidermis menipis dan pertukaran nutrisi ke epidermis berkurang. Akibatnya kulit mudah lecet dan robek setelah trauma ringan. Kemampuan proliferasi sel basal semakin menurun. Di lapisan dermis, jumlah sel mast dan fibroblas lebih sedikit

dibandingkan di kulit muda dan hal tersebut juga terjadi pada serat kolagen serta serat elastin.⁵⁶

Ketika jaringan dalam tubuh mengalami luka kemudian terinfeksi dan radang akan ada pelepasan dari sitokin-sitokin secara bersamaan baik pro-inflamasi maupun anti-inflamasi. Pada saat yang sama juga respon juga dikeluarkan oleh sitokin anti-inflamasi yaitu Th1, Th2 dan Th17 yang secara bersamaan akan memproduksi IL-10 sebagai respon terhadap antigen dengan dosis yang tinggi. Selain dihasilkan oleh kelompok T helper, IL-10 juga diproduksi oleh T regulator sebagai agen anti-inflamasi. Tingkat ekspresi IL-10 didalam tubuh memiliki korelasi terhadap kondisi inflamasi. Pada saat tubuh mengalami inflamasi ekspresi IL-10 mengalami penurunan, hal ini terjadi karena adanya aktivitas sitokin proinflamasi yang memiliki korelasi terhadap peningkatan inflamasi dalam tubuh. Faktor intrinsik, seperti genetik, metabolisme sel, dan perubahan hormonal, berperan dalam penuaan kulit. Faktor ekstrinsik, seperti radiasi ultraviolet, inframerah, dan karsinogen lingkungan, juga berperan dalam penuaan kulit.^{54,56}

Mekanisme yang mendasari penuaan kulit selalu berkembang sehingga penting untuk mengetahui mekanisme molekular terbaru, serta perubahan yang terjadi akibat penuaan dapat menentukan tata laksana yang tepat untuk mencegah dan mengobati penuaan kulit. Terdapat dua faktor yang berperan dalam terjadinya penuaan kulit, yaitu faktor intrinsik dan ekstrinsik. Faktor intrinsik adalah genetik, metabolisme sel, dan perubahan hormonal. Faktor usia, jenis kelamin, riwayat, status pengobatan, variasi genetik, dan sistem imun,⁵⁷ selain itu faktor lingkungan

(faktor ekstrinsik) seperti radiasi ultraviolet, inframerah, dan karsinogen lingkungan yang turut berperan pada penuaan kulit.⁵⁴

2.3 Gel Ekstrak Kulit Delima (*Punica granatum*)

2.3.1 Taksonomi tanaman delima

Delima merupakan tanaman dikotildari famili Punicaceae yang berasal dari Timur Tengah dipercaya sebagai tanaman obat alami sejak 1550 SM. Umumnya ditanam di Asia Tengah, Timur Tengah, Barat Daya Amerika, dan wilayah Mediterania. Pohon delima mempunyai umur yang panjang, mencapai ketinggian 12 hingga 16 kaki dan bertahan selama lebih dari 200 tahun.⁵⁸

Pohon delima mempunyai umur yang panjang, mencapai ketinggian 12 hingga 16 kaki, batang berkayu, ranting bersegi, percabangan banyak, kadang berduri, coklat ketika masih muda, dan hijau kotor setelah tua. Daun tunggal yang berhadapan atau tersebar, tanpa daun penumpu, helaian daun berbentuk lonjong sampai lanset, pangkal lancip, ujung tumpul, tepi rata, pertulangan menyirip, warna hijau. Bunga banci, aktinomorfi, terpisah. Sumbu bunga berongga, bangun kerucut. Daun kelopak bertaju 5-7, tidak gugur. Daun mahkota 5-7, dalam kuncup tidak beraturan.⁵⁹

Delima tumbuh dengan mudah di daerah beriklim kering di tepi gurun.

Klasifikasi atau taksonomi dari pohon delima, sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i> ,
Filum	: <i>Tracheophyta</i> ,
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> ,
Ordo	: <i>Myrtales</i> ,
Family	: <i>Lythraceae</i> ,
Genus	: <i>Punica</i> ,
Spesies	: <i>Punica granatum</i> . ⁵⁸

Buah delima toleran terhadap beberapa jenis tanah dan dapat tumbuh subur dalam berbagai situasi lingkungan. Delima rentan terhadap drainase tanah yang buruk, dalam keadaan seperti ini pertumbuhannya lambat dan menghasilkan buah berkualitas rendah. Lempung berpasir dalam sangat ideal untuk budidaya buah delima; musim panas yang berkepanjangan meningkatkan kapasitas tanah untuk pertumbuhan, produktivitas, dan kualitas produk jadi. Hingga sekitar 1600 meter di atas permukaan laut, produk ini dapat dibudidayakan.⁶⁰

Delima tumbuh dengan baik di dataran rendah untuk spesies tertentu dan di dataran tinggi untuk spesies lain. Budidaya buah delima memiliki beberapa kendala utama, salah satunya adalah kerentanannya terhadap dingin. Buah delima memerlukan musim panas yang panjang dan terik agar bisa matang karena akan rusak jika suhunya di bawah 12°C. Akibatnya, buah delima manis lebih sensitif dibandingkan buah delima asam.⁶⁰

2.3.2 Kandungan antioksidan pada kulit delima

Buah dan pohon delima mengandung berbagai jenis gula, flavonoid, antosianin, asam lemak, alkaloid, vitamin, dan lain sebagainya. mengandung beta karoten, vitamin C, B1, dan B2. Selain itu, asam organik utama yang terdapat pada buah delima antara lain asam fumarat, asam oksalat, asam suksinat, asam sitrat, dan asam tartarat. Asam ellagic, asam galat, asam klorogenat, asam sinamat, asam hidroksi asam protocatechuic, asam hidroksi benzoat, asam caffeic, asam ferulat, asam kumarat, asam p-kumarat, dan asam o-kumarat, peletierin, isopelletierine, metilpelle tierine, pseudopelletierine, punicalagin, punicalin, phloridzin, quercetin, dan catchin termasuk alkaloid yang terdapat pada kulit buah delima.⁶⁰

Glikosida luteolin, kaempferol, dan narigenin adalah flavonoid yang ada dalam buah delima. Kandungan antosianin bertanggung jawab memberi warna pada buah delima. Enam antosianin yang memberi warna merah pada bagian buah delima yang dapat dimakan adalah gonidin (warna oranye dan merah), sianidin (warna merah dan merah tua), dan delphinidin (biru dan ungu). Antosianin ini juga dikenal sebagai 3,5-diglukosida delphinidin, 3-glikosida delphinidin, 3,5-diglukosida sianidin, 3-glikosida pelargonidin, dan 3-glikosida pelargonidin; keenam antosianin ini dilepaskan dari buah delima.⁶⁰

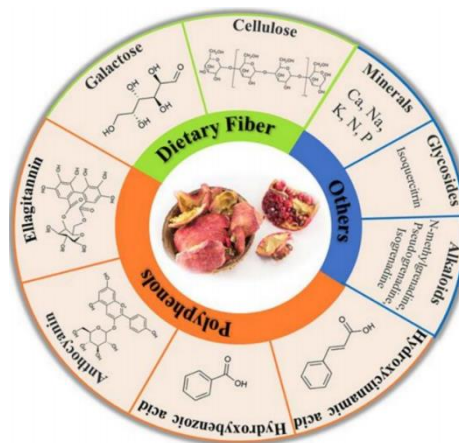
Buah delima memiliki sifat antivirus terhadap virus influenza dan herpes. Dalam pengobatan konvensional Iran, umumnya digunakan sebagai zat astringen, hemostatik, dan antibakteri. Kulit kayu bubuk memiliki kualitas terapi antihelmintik dan periodontal. Biji delima telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk menyembuhkan cacingan, radang paru-paru, diare, masalah pencernaan, dan luka yang terinfeksi. Mereka juga dikatakan mengendalikan sensasi terbakar dalam urin.⁶¹

Senyawa fenolik utama yang ditemukan dalam kulit buah delima adalah Punicalagin yang merupakan ellagitannin dengan rumus kimia $C_{48}H_{28}O_{30}$. Punicalagin adalah antioksidan kuat yang berkontribusi signifikan terhadap kapasitas antioksidan total buah delima. Asam Ellagat senyawa dengan rumus kimia $C_{14}H_6O_8$. Asam ellagat dikenal karena aktivitas antioksidannya yang tinggi dan kemampuannya dalam menangkap radikal bebas, dan asam Galat yang memiliki rumus kimia $C_7H_6O_5$. Asam galat adalah senyawa fenolik yang berfungsi sebagai antioksidan dan memiliki sifat antimikroba. Struktur kimia senyawa-senyawa ini mengandung gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada cincin aromatik, memberikan

kemampuan reduksi yang kuat. Gugus hidroksil ini dapat mendonorkan atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas, sehingga berperan dalam aktivitas antioksidan. Selain itu, keberadaan gugus karbonil ($C=O$) dalam struktur asam ellagat dan asam galat juga mempengaruhi sifat redoksnya. Aktivitas antioksidan dari senyawa fenolik ini menjadikan kulit buah delima sebagai sumber potensial untuk aplikasi dalam bidang kesehatan dan kosmetik, terutama dalam melawan stres oksidatif yang berkontribusi pada berbagai penyakit degeneratif dan penuaan kulit.⁶²

2.3.3 Kandungan yang terdapat pada kulit delima

Kulit buah delima mengandung tanin, yaitu fenolik yang larut dalam air dan dapat terhidrolisis. Berdasarkan strukturnya, tanin mempunyai empat kategori utama: gallotanin, ellagitanin, tanin kompleks, dan tanin padat. Punicalagin adalah ellagitannin yang merupakan komponen utama pada kulit buah delima, kandungannya jauh lebih tinggi dibandingkan senyawa lainnya. Kulit delima mengandung komponen spesifik khususnya polifenol dan antosianin yang mempunyai efek antioksidan, antiinflamasi, penyembuhan luka, pemutih, antijerawat, anti rambut rontok, antivirus, dan antibakteri. Ini juga mencegah photoaging kulit akibat UVB.⁶³



Gambar 2.3 Kandungan pada kulit buah delima.

Radiasi Ultraviolet (UV) menyebabkan berbagai masalah kulit, antara lain sengatan matahari, peradangan, hiperplasia, penekanan sistem kekebalan tubuh, penuaan kulit, dan kanker kulit. Polifenol delima membantu mencegah dan melindungi efek buruk sinar ultraviolet pada kulit. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa kulit delima dapat meningkatkan proses penyembuhan luka. Murthy KN *dkk.* 2022 menemukan bahwa ekstrak buah delima memiliki senyawa fenolik yang tinggi (44%). Mereka memformulasikan 10% gel yang larut dalam air untuk menyelidiki penyembuhan luka, persentase kontraksi kulit, kolagen, dan kandungan hidroksiprolin dalam model kulit tikus. Tikus yang diobati dengan gel 2,5% menunjukkan peningkatan penyembuhan luka Sementara itu, dengan kelompok gel 5,0% menunjukkan perbaikan penyembuhan luka.⁶³

2.3.4 Manfaat ekstrak kulit delima

Salah satu manfaat produk kosmetik adalah untuk melindungi kulit karena bahan yang terkandung di dalamnya, sehingga dapat mempengaruhi fungsi biologis kulit. Bahan alam memiliki keuntungan dengan minimnya efek samping yang ditimbulkan untuk penggunaan jangka panjang. Sehingga bahan alam saat ini menjadi primadona dalam formulasi sediaan kosmetik.⁶⁴

Aktivitas antioksidan kulit buah delima dapat disebabkan karena ekstrak kulit buah delima mengandung banyak senyawa polifenol, salah satunya adalah punikalin ($C_{34}H_{22}O_{22}$) sebagai senyawa identitas dari kulit buah delima. Punikalin merupakan senyawa jenis ellagitannin yang dari strukturnya mengandung banyak gugus fenol. Punikalin yang diisolasi dari kulit buah delima diketahui secara *in vitro* dan *in vivo* memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.⁶⁵

2.3.5 Kelebihan gel ekstrak kulit delima

Gel merupakan sediaan topikal setengah padat yang nyaman digunakan karena menciptakan lingkungan lembab, dingin dan daya serap yang baik pada kulit serta mudah dicuci dengan air.⁶⁶ Gel adalah sediaan bermassa lembek, berupa suspensi yang dibuat dari zarah kecil. Untuk kosmetik, gel digunakan pada shampoo, parfum, pasta gigi, dan kulit dan sediaan perawatan rambut. Kelebihan sediaan gel yaitu daya serapnya pada kulit baik, tidak menghambat fungsi fisiologis kulit, khususnya respirasi, sensiblis oleh karena tidak melapisi permukaan kulit secara kedap dan tidak menyumbat pori-pori kulit, mudah dicuci dengan air, bersifat lembut, pelepasan obatnya baik. Adapun kekurangan sediaan gel adalah penggunaan emolien golongan ester harus diminimalkan atau dihilangkan untuk mencapai kejernihan yang tinggi, untuk hidroalkoholik gel dengan kandungan alcohol yang tinggi dapat menyebabkan pedih pada wajah dan mata.⁶⁷¹⁵

Aplikasi lainnya dengan krim yang memiliki konsistensi yang lebih kental. memiliki persentase air yang lebih sedikit, dengan kandungan minyak berlebih mudah untuk meresap ke dalam kulit walaupun membutuhkan waktu yang terbilang cukup lama.⁶⁸ Sedangkan penggunaan lotion tidak lengket serta cepat meresap ke dalam kulit, memiliki formulasi yang ringan, tidak oklusif atau mengunci hidrasi sehingga cocok di gunakan pada lingkungan yang panas.⁶⁹

Sediaan dalam bentuk gel banyak dipilih karena memiliki banyak keunggulan, karena dapat menghasilkan penyebaran pada kulit yang baik, pelepasan obat yang baik, memiliki tampilan sediaan jernih dan elegan, bila

diaplikasikan akan meninggalkan film tembus pandang, mudah dicuci dan stabil pada penyimpanan. Pada sediaan gel, gelling agent adalah bahan yang berperan dalam membentuk basis gel.⁶⁶

2.4 Paparan Sinar ultraviolet (UV) pada kulit

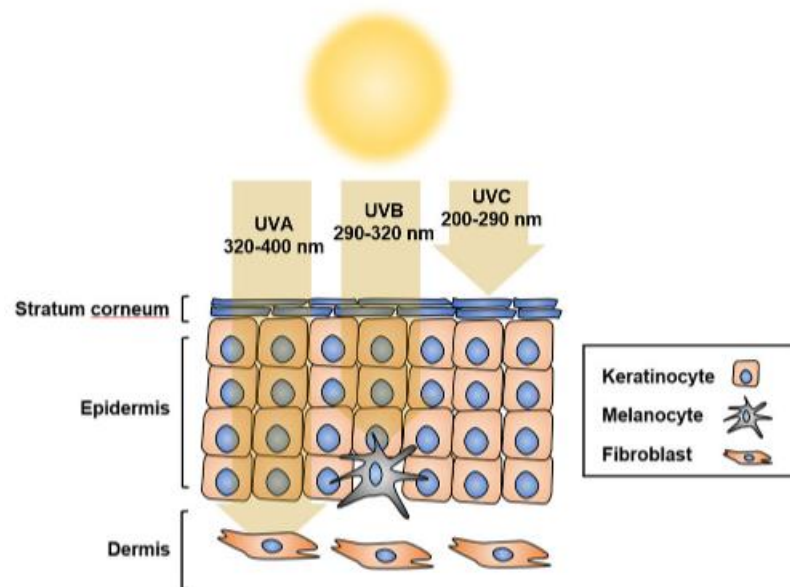
Penuaan kulit melibatkan proses internal dan eksternal. Perubahan yang terjadi akibat kondisi genetik (penuaan internal dan kronologis) tumpang tindih dengan gejala penuaan yang dipicu oleh kondisi lingkungan (penuaan ekstrinsik). Faktor eksternal paling berbahaya yang mengancam kulit adalah radiasi ultraviolet (UV).¹⁸ Tingkat keparahan paparan UV tergantung pada berbagai faktor seperti intensitas dan durasi paparan sinar UV, jenis kulit, dan perlindungan yang digunakan.¹⁹ Paparan sinar UV pada lapisan terluar kulit menyebabkan iritasi atau peradangan, kerusakan akut maupun kronis seperti eritema, kerusakan kolagen dan elastin, photoaging, dan kerusakan jaringan kulit karena stres oksidatif yang merusak lipid, protein, dan *Deoxyribonucleic Acid* (DNA).²⁰

Kulit manusia yang merupakan bagian penting dari sistem kekebalan bawaan, memiliki berbagai mekanisme molekuler yang melindungi dari paparan sinar UV. Struktur lapisan epidermis yang berfungsi sebagai pertahanan pertama terhadap agen eksternal yang berbahaya. Selain itu, sel imun seperti sel Langerhans dan limfosit T terletak di dalam kulit. Perlindungan lain bagi kulit adalah melanosit, pigmen yang disintesis oleh sel-sel melanosit menghambat penetrasi dari radiasi UV ke dalam lapisan epidermis. Lebih jauh lagi, untuk mempertahankan homeostasis, kerusakan DNA yang disebabkan oleh sinar UV dapat diperbaiki pada tingkat molekuler melalui perbaikan nukleotida dan mekanisme pemotongan basa atau mekanisme

apoptosis serta titik pemeriksaan siklus sel yang diaktifkan.¹⁸

2.4.1 Inflamasi kulit akibat paparan ultraviolet B (UV-B)

Radiasi ultraviolet (UV) memiliki panjang gelombang yang lebih pendek daripada cahaya tampak, yang membuatnya tidak terlihat oleh mata telanjang. Berdasarkan panjang gelombang yang berbeda, radiasi UV diklasifikasikan sebagai UVA pada 320 hingga 400 nm, UVB pada 290 hingga 320 nm, atau UVC pada 200 hingga 290 nm. UVA menembus kulit lebih dalam dari UVB dan UVC, tetapi tidak merusak epidermis secara signifikan. UVB menyebabkan kulit terbakar dan merusak epidermis, sehingga memainkan peran utama dalam perkembangan kanker kulit. Sebagian besar UVC tidak mencapai bumi karena panjang gelombangnya yang pendek, dan diserap oleh lapisan ozon.²¹



Gambar 2. 4 Penetrasi UV ke dalam kulit.²¹

Rentang panjang gelombang UVB 280–320 nm.²² Paparan sinar UVB yang berlebihan dapat menyebabkan peradangan dan meningkatkan risiko terkena

kanker kulit,²³ menyebabkan kulit terbakar, kemerahan, nyeri, dan peradangan. Terjadi lapisan terluar kulit, epidermis, dan merusak DNA sel-sel kulit. Akibatnya, mediator inflamasi dilepaskan dan sel-sel imun diaktifkan.²⁰ Paparan UV-B menyebabkan reaksi pro-inflamasi dan anti-inflamasi pada kulit. Pelepasan sitokin pro-inflamasi yang bertanggung jawab atas rasa sakit, pembengkakan, dan kemerahan, paparan UVB juga dapat menyebabkan respons anti-inflamasi pada kulit, seperti pelepasan *interleukin 10* (IL-10).²⁴

Sinar UVB menyebabkan pembentukan dimer siklobutana timin-timin, yang merusak DNA secara langsung. Tubuh melepaskan penanda inflamasi seperti bradikinin, prostaglandin, dan spesies oksigen reaktif setelah pembentukan dimer ini. Hal ini menyebabkan rasa sakit, edema, dan vasodilatasi, yang menyebabkan kulit merah.²⁵ UVB menyebabkan pembentukan infiltrat sel inflamasi, eritema, pembentukan lepuh, dan kematian keratinosit. Membran fosfolipid melepaskan asam lemak tak jenuh ganda, termasuk asam arakidonat, dan dimetabolisme kemudian oleh *siklooksigenase* (COX) dan *lipoksigenase* (LOX) ke eikosanoid bioaktif. Kulit yang terpapar UVB menginduksi ekspresi COX-2, 12-LOX, dan 15-LOX. Sebaliknya, *prostaglandin* (PG) yang diturunkan dari COX-2, terutama PGE₂, bertanggung jawab atas vasodilatasi dan respons eritema. Sementara itu, metabolit LOX, seperti asam 12-*hydroxyeicosatetraenoic* (12-HETE), bertindak sebagai chemoattractant dan menyebarkan infiltrasi neutrofil dan limfosit T dermal.²⁶

Penelitian melaporkan bahwa kultur bersama sel kulit dan makrofag yang mengekspresikan CD163 secara berlebihan mengurangi *Monocyte*

Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) dan meningkatkan *Transforming Growth Factor Alpha* (TGF- α), tanpa mengubah *interleukin 6* (IL-6) atau *Transforming Growth Factor beta* (TGF- β). CD163 menginduksi penyembuhan luka yang lebih efisien dan tampaknya mendorong lingkungan luka dengan profil molekuler pro-resolusi. Penelitian ini menjadi dasar untuk mempelajari pendekatan dalam terapi klinis yang relevan secara *in vivo* untuk menguji efeknya dalam proses penyembuhan luka seperti cedera mayor akut, operasi besar, atau ulkus kronis.²⁷

Ekspresi CD163 oleh (*Tumor-associated macrophage*) TAM telah terbukti menjadi indikator prognosis buruk yang sangat kuat pada beberapa kanker manusia. Ekspresi CD163 diinduksi oleh sitokin yang mendorong tumor seperti IL-6 dan IL-10, sedangkan rangsangan inflamasi, termasuk *Lipopolysaccharide* (LPS), *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF α), dan *Interferon Gamma* (IFN γ), menyebabkan penurunan regulasi ekspresi dan penghilangan CD163 yang terikat membran melalui pelepasan proteolitik. Bersama dengan pembentukan metabolit heme antiinflamasi dari pemulungan hemoglobin, telah menyebabkan asosiasi makrofag CD163+ dengan fungsi antiinflamasi.²⁸

2.5 Pengaruh gel ekstrak kulit delima terhadap ekspresi CD163 dan kadar IL-10 akibat paparan sinar UV-B

Paparan UV-B dapat meningkatkan produksi IL-10 dalam kulit, yang kemudian dapat menginduksi ekspresi CD163 pada makrofag. Peningkatan CD163 ini dapat berkontribusi pada respons anti-inflamasi dan modulasi sistem imun setelah paparan UV-B.⁷ CD163 dalam melindungi terhadap kerusakan jaringan, diekspresikan pada monosit yang bersirkulasi pada makrofag jaringan. Selain itu,

tingkat CD163 yang tinggi terdeteksi pada monosit yang menginfiltrasi selama fase resolusi reaksi inflamasi. Ekspresi CD163 diatur oleh mediator anti-inflamasi seperti IL-10 yang merupakan penginduksi yang sangat kuat.⁸

Ekstrak kulit delima yang kaya akan punicalagin dapat mengurangi kerusakan kulit akibat sinar UV-B dengan meningkatkan aktivitas antioksidan dan modulasi ekspresi gen yang terkait dengan inflamasi. Punicalagin dapat mengurangi kerusakan yang diinduksi oleh UV-B dengan meningkatkan ekspresi CD163 dan produksi IL-10. Mekanisme molekuler yang mendasari efek ini melibatkan aktivitas antioksidan punicalagin yang mengurangi stres oksidatif dan modulasi jalur sinyal yang terkait dengan inflamasi.⁷⁰ Punicalagin menangkap dan menetralkan radikal bebas, termasuk ROS, melalui donasi atom hidrogen atau transfer elektron. Hal ini mencegah ROS bereaksi dengan molekul biologis lain yang dapat menyebabkan kerusakan seluler. Mengkkelat ion logam seperti Fe^{2+} dan Cu^{2+} , yang berperan dalam pembentukan ROS melalui reaksi Fenton. Dengan mengkkelat ion-ion ini, punicalagin mengurangi produksi ROS.⁷⁰

Punicalagin dapat mempengaruhi jalur sinyal intraseluler yang meningkatkan ekspresi enzim antioksidan endogen, seperti superoksida dismutase (SOD) dan katalase, yang berperan dalam detoksifikasi ROS. Punicalagin melindungi sel endotel vaskular dari stres oksidatif yang diinduksi oleh H_2O_2 dengan mengurangi produksi ROS dan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan.⁷⁰ Punicalagin menghambat aktivasi NF- κ B, yang merangsang produksi sitokin pro-inflamasi. Dengan menghambat NF- κ B, punicalagin menurunkan produksi sitokin pro-inflamasi dan mendorong peningkatan IL-10. Membantu menjaga keseimbangan

redoks seluler dan mengurangi peradangan.⁷¹

IL-10 mendorong diferensiasi makrofag ke fenotipe M2, yang ditandai dengan ekspresi CD163. Dengan meningkatkan produksi IL-10, senyawa-senyawa antioksidan dapat meningkatkan jumlah makrofag M2 dan, dengan demikian, meningkatkan ekspresi CD163. CD163 berperan dalam pelepasan IL-10 dan sintesis heme oksigenase-1, yang berkontribusi pada respons anti-inflamasi monosit-makrofag. melalui aktivitas antioksidan dan modulasi jalur sinyal inflamasi, punicalagin dapat meningkatkan produksi IL-10 dan ekspresi CD163, yang berkontribusi pada efek anti-inflamasi dan perlindungan jaringan.⁷²

Penggunaan herbal yang dapat mengurangi terjadinya penuaan dini dengan antioksidan kuat dari kulit delima.⁶ Kulit delima mengandung komponen spesifik khususnya polifenol dan antosianin yang mempunyai efek antioksidan, antiinflamasi, pemutih, antijerawat, dan antibakteri untuk mencegah photoaging kulit akibat UVB.⁶³ Pemberian gel ekstrak kulit buah delima diharapkan dapat meningkatkan ekspresi CD163 dan kadar IL-10 sehingga mengatasi inflamasi yang terjadi sehingga mempercepat penyembuhan pada kulit.

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka teori

Radiasi UVB meningkatkan produksi ROS, mengaktivasi beberapa jalur sintesis melanin, inaktivasi jalur sintesis kolagen dan proses inflamasi. Radiasi UVB merangsang reseptor faktor pertumbuhan permukaan sel, sitokin, dan MAPK, yang pada gilirannya mengatur AP-1. Peningkatan aktivitas AP-1 menurunkan regulasi pro-kolagen tipe I dan meningkatkan regulasi MMP. Selain itu, NF- κ B diaktifkan dalam keratinosit kulit melalui radiasi UVB dan menyebabkan peningkatan kadar MMP-1, sehingga penekanan jalur NF- κ B akan terjadi proses photoaging kulit.⁷³ Peningkatan kadar ROS mempercepat penuaan kulit dengan meningkatkan proliferasi melanosit dan sintesis melanin.⁷⁴ Memicu peningkatan sitokin inflamasi, peningkatan NF- κ B dan AP1, sehingga terjadi degradasi kolagen yang menyebabkan peningkatan kerusakan kolagen, akumulasi elastin sebagai penyebab *photoaging*.⁷⁵ Penuaan yang terjadi akibat UV menyebabkan gangguan pada kolagen dermal, elastin dan ECM, hilangnya integritas struktural pada dermis, meningkatkan jumlah dan tingkat keparahan kerutan dan memburuknya tekstur kulit.⁷⁶

Paparan berulang UVB merangsang perluasan sel-sel imunosupresif di kulit, sehingga melawan keadaan peradangan. Perluasan *regulatory T cells* (Treg), *myeloid-derived suppressor cells* (MDSCs), *regulatory B cells* (Bregs), dan *regulatory dendritic cells* (DCregs) meningkatkan aktivitas imunosupresif di kulit. sel imunosupresif mengeluarkan sitokin antiinflamasi, seperti IL-10, Peradangan kronis dan imunosupresi yang melawannya menyebabkan perubahan degeneratif

pada kulit yang memicu keadaan photoaging.⁷ Peran penting CD163 dalam melindungi terhadap kerusakan jaringan, diekspresikan pada monosit yang bersirkulasi pada makrofag jaringan. Selain itu, tingkat CD163 yang tinggi terdeteksi pada monosit yang menginfiltrasi selama fase resolusi reaksi inflamasi. Ekspresi CD163 diatur oleh mediator anti-inflamasi seperti IL-10 yang merupakan penginduksi yang sangat kuat.⁸

Perlunya produk yang memberikan perlindungan dari ROS dengan meningkatkan produksi kolagen, mengurangi degradasi kolagen dan perubahan pigmentasi. Menjaga kesehatan kulit dengan menstimulasi gen-gen yang terlibat di dalam kaskade anti-penuaan.⁷⁶ Penggunaan herbal yang dapat mengurangi terjadinya penuaan dini dengan antioksidan kuat dari kulit delima.⁶

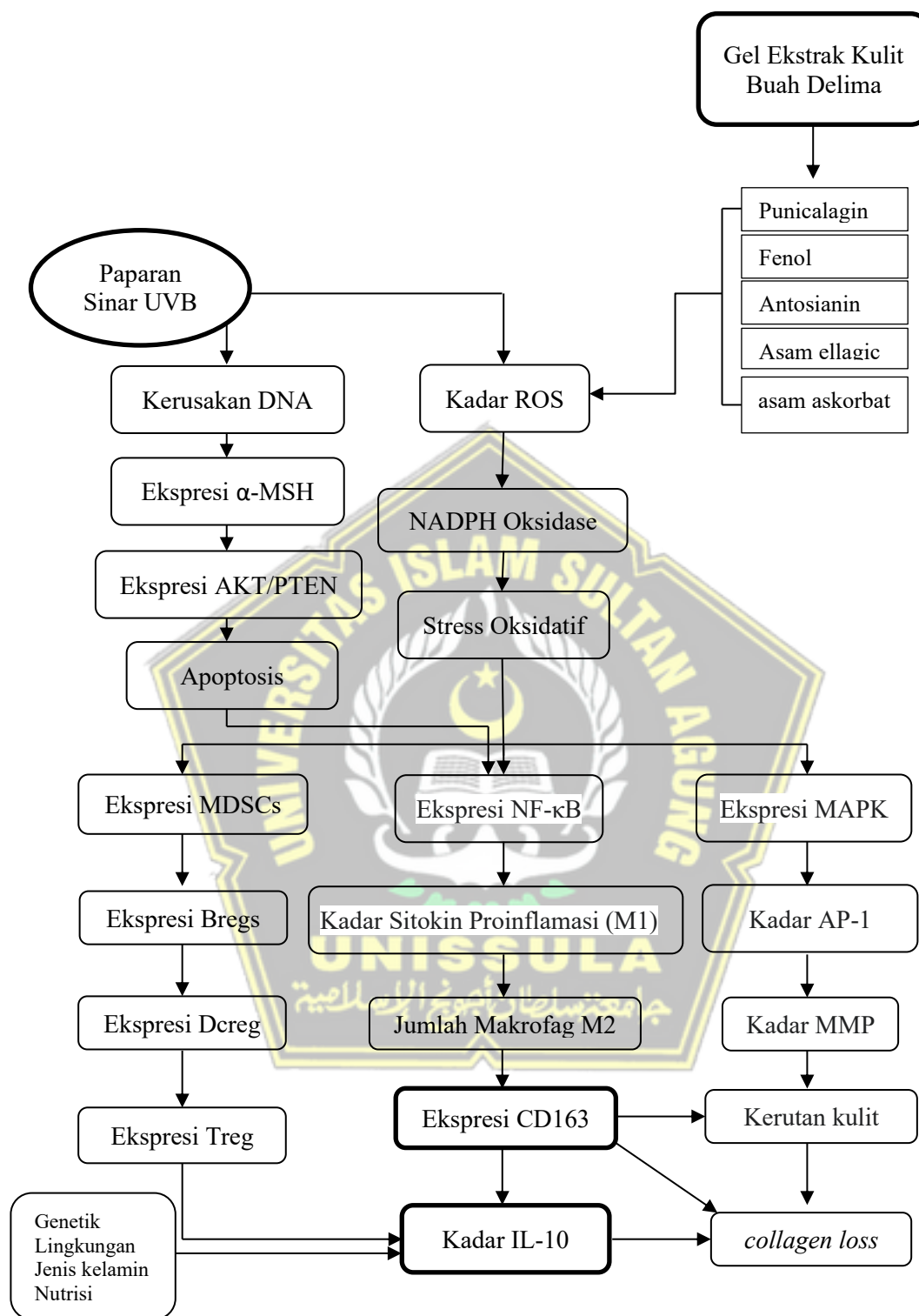
Ekstrak buah delima yang kaya akan punicalagin dapat mengurangi kerusakan kulit akibat sinar UV-B dengan meningkatkan aktivitas antioksidan dan modulasi ekspresi gen yang terkait dengan inflamasi. Punicalagin meningkatkan ekspresi CD163 dan produksi IL-10. Punicalagin menangkap dan menetralkan radikal bebas, termasuk ROS, melalui donasi atom hidrogen atau transfer elektron. Hal ini mencegah ROS bereaksi dengan molekul biologis lain yang dapat menyebabkan kerusakan seluler. Mengkhelat ion logam seperti Fe^{2+} dan Cu^{2+} , yang berperan dalam pembentukan ROS melalui reaksi Fenton. Dengan mengkhelat ion-ion ini, punicalagin mengurangi produksi ROS.⁷⁰

Punicalagin dapat mempengaruhi jalur sinyal intraseluler yang meningkatkan ekspresi enzim antioksidan endogen, seperti superoksida dismutase (SOD) dan katalase, yang berperan dalam detoksifikasi ROS. Punicalagin melindungi sel

endotel vaskular dari stres oksidatif yang diinduksi oleh H_2O_2 dengan mengurangi produksi ROS dan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan.⁷⁰ Punicalagin menghambat aktivasi NF- κ B, yang merangsang produksi sitokin pro-inflamasi. Dengan menghambat NF- κ B, punicalagin menurunkan produksi sitokin pro-inflamasi dan mendorong peningkatan IL-10. Membantu menjaga keseimbangan redoks seluler dan mengurangi peradangan.⁷¹

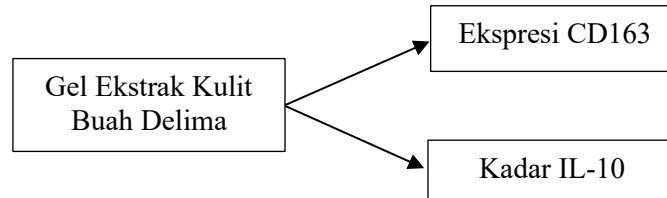
IL-10 mendorong diferensiasi makrofag ke fenotipe M2, yang ditandai dengan ekspresi CD163. Dengan meningkatkan produksi IL-10, senyawa-senyawa antioksidan dapat meningkatkan jumlah makrofag M2 dan, meningkatkan ekspresi CD163. CD163 berperan dalam pelepasan IL-10 dan sintesis heme oksigenase-1, yang berkontribusi pada respons anti-inflamasi monosit-makrofag. melalui aktivitas antioksidan dan modulasi jalur sinyal inflamasi, punicalagin dapat meningkatkan produksi IL-10 dan ekspresi CD163, yang berkontribusi pada efek anti-inflamasi dan perlindungan jaringan.⁷²

Dari uraian diatas, dapat disusun kerangka teori sebagai berikut:



Gambar 3.1 Kerangka Teori

3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka konsep

3.3 Hipotesis

Pemberian gel ekstrak kulit buah delima berpengaruh terhadap ekspresi CD163 dan kadar IL-10 pada tikus jantan galur *Wistar* yang diinduksi sinar UV-B

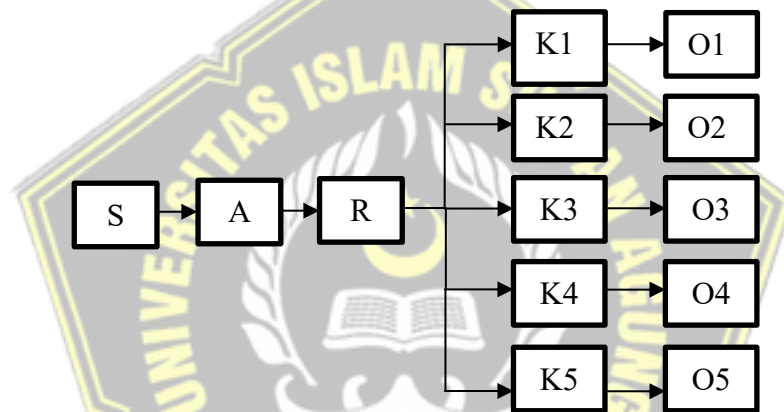


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini tergolong pada penelitian eksperimental dengan desain *post-test only control group* untuk mengetahui pengaruh pemberian gel ekstrak kulit buah delima terhadap ekspresi CD163 dan kadar IL-10 pada tikus galur wistar yang dipapar sinar UV-B, dengan skema sebagai berikut:



Gambar 4.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan :

S: Subjek Penelitian tikus

A: Adaptasi

R: Randomisasi

Perlakuan K1 : Kontrol sehat (Tikus sehat)

Perlakuan K2 : Kontrol negatif (Tikus dipapar sinar UVB tanpa intervensi selama 7 hari)

Perlakuan K3 : Kontrol positif (Tikus dipapar sinar UVB dan diberikan gel vitamin C selama 7 hari)

Perlakuan K4 : Tikus dipapar sinar UVB dan diberikan gel ekstrak kulit buah delima 10% selama 7 hari

Perlakuan K5 : Tikus dipapar sinar UVB dan diberikan gel ekstrak kulit buah delima 20% selama 7 hari

O : Observasi atau pengamatan

4.2. Populasi dan Sampel

4.2.1. Tikus Wistar jantan

Sampel penelitian adalah tikus Wistar jantan yang ada di laboratorium *Stem Cell and Cancer Research* (SCCR), yang memenuhi kriteria untuk digunakan sebagai subjek penelitian.

1. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah sebagai berikut

- a. Tikus jantan galur wistar yang dipapar sinar UVB
- b. Umur 2-3 bulan
- c. Kondisi sehat
- d. Berat badan 200-250 gram

2. Kriteria *Drop Out*

Tikus yang sakit selama penelitian.

4.2.2. Jumlah Sampel

Total jumlah sampel yang diperlukan dalam penelitian ditentukan menggunakan rumus Federer,⁷⁷ sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 (t-1)(n-1) &\geq 15 \\
 (5-1)(n-1) &\geq 15 \\
 4n - 5 &\geq 15 \\
 n &\geq (15+4)/4 \\
 n &\geq 4,75 \\
 n &\geq \approx 5
 \end{aligned}$$

Keterangan: t = banyaknya perlakuan
n = banyaknya sampel setiap perlakuan.

Hasil perhitungan diperoleh jumlah sampel sebanyak 5 ekor untuk tiap kelompok. jumlah sampel yang diperlukan adalah 25 ekor tikus. Sampel ditambah satu ekor sebagai cadangan pada setiap kelompok untuk menghindari adanya *drop out* seperti sakit atau mati, sehingga total sampel menjadi 30 ekor tikus Wistar.

4.3. Variabel dan Definisi Operasional

4.3.1. Variabel

a. Variabel Bebas

Gel ekstrak kulit buah delima dengan dosis 10% dan 20%.¹³

b. Variabel terikat

- Ekspresi CD163
- Kadar IL-10

c. Variabel Prakondisi

Tikus Wistar yang dipapar sinar UVB

4.3.2. Definisi Operasional

a. Gel ekstrak kulit buah delima

Gel ekstrak kulit buah delima dibuat dari kulit buah delima dengan tingkat kematangan yang cukup, pada sampel kulit delima yang

digunakan berwarna merah cerah dan merata diseluruh bagian yang diambil dari perkebunan Citra Argo Gunung Pati, kemudian menggunakan pelarut etanol 70% untuk ekstraksinya, ekstrak dibuat sediaan gel dosis 10% dan 20%. Basis gel menggunakan *propilen glikol*, *trietanolamin*, dan *natrium benzoate*. Diberikan secara topikal 1 kali setiap hari pada bagian punggung selama 7 hari setelah 1 jam paparan UVB sebagai kuratif/pengobatan.

Skala data : ordinal

b. Ekspresi CD163

Ekspresi CD163 pada jaringan kulit sampel tikus Wistar setelah perlakuan secara topikal selama 7 hari. Pengukuran ekspresi CD163 pada jaringan kulit setelah terpapar sinar UVB dilakukan pada hari ke 8 dengan ekstraksi RNA untuk dianalisa dengan metode qRT-PCR, di laboratorium SCCR Semarang.

Skala data : rasio

Satuan : mCD163 RNA *relative expression*

c. Kadar IL-10

Kadar IL-10 yang diekspresikan pada jaringan kulit sampel tikus Wistar setelah perlakuan paparan sinar UVB dan pemberian intervensi secara topikal selama 7 hari, sampel jaringan kulit diambil pada hari ke-8. Jumlah kadar IL-10 didapat dengan analisis menggunakan metode ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) dengan prosedur menyesuaikan sampel dari jaringan kulit secara lokal yang di lakukan di

laboratorium SCCR Semarang.

Skala data : rasio

Satuan : pg/mL

4.4 Bahan atau Materi Penelitian

1. Bahan dalam pembuatan ekstrak membutuhkan kulit delima, etanol 70%
2. Bahan selama perlakuan menggunakan tikus Wistar, pakan dan air minum untuk tikus
3. Bahan yang digunakan dalam pemeriksaan, standard diluent, blocking buffer, sampel diluent, biotinylated anti bodi, capture antibodi, ABC, HRP,TMB, stop solution, wash solution

4.5 Peralatan

1. Pada pembuatan ekstrak diperlukan alat rotatory evaporator, alat sohlet, oven, kertas saring, mesin penggiling, gelas ukur, pipet ukur, wadah penyimpanan steril.
2. Selama perlakuan pada tikus wistar diperlukan kandang tikus dengan kelengkapan makan dan minum, papan fiksasi, jarum, sarum tangan, masker, pinset, gunting, pisau cukur, alat UV light (broadband dengan peak emission pada 302 nm) dengan energi 160 mJ/cm², wadah paparan.
3. Alat untuk membuat sampel pemeriksaan diperlukan pisau scalpel, PBS (PH 7,4). Setrifus
4. Alat pemeriksaan *polystyrene* 48 well microtier plate (microplate), micropipet, ELISA reader, Elisa plate, Incubator.

4.6 Cara Penelitian dan Alur kerja

4.6.1 *Ethical Clearance*

Ethical clearance penelitian sudah diperoleh dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang dengan nomor surat No.556/XXI/2024/Komisi Bioetik pada tanggal 30 Desember 2024.

4.6.2 Cara Pembuatan Ekstrak kulit buah delima

Sampel kulit delima sebanyak 1 kg yang masih segar dicuci, lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C, selanjutnya diserbukkan sehingga dihasilkan serbuk simplisia. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menimbang simplisia kulit buah delima yang sudah halus sebanyak 400 gram, serbuk simplisia dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 2 liter. lalu di rendam di dalam bejana dan terlindung dari cahaya selama 3 hari sambil di aduk secara berulang-ulang. setelah 3 hari ekstrak dipisahkan dari ampasnya dengan cara disaring dengan kertas saring. Filtrat diuapkan diatas waterbath hingga peroleh ekstrak kental.⁷⁸

4.6.3 Pembuatan Sediaan gel ekstrak kulit buah delima

Pembuatan sediaan gel ekstrak kulit buah delima dilakukan di laboratorium SCCR, dengan mencampurkan karbopol dengan aquadest dalam mortir hingga mengembang. Metil paraben dilarutkan dalam gliserol kemudian aduk hingga larut dalam beacker glass (campuran 1). Kemudian pada mortir yang berbeda ekstrak kulit buah delima 100% sebanyak 10 mg/ml

dan 20 mg/ml digerus hingga teksturnya menjadi lembut lalu tambahkan propilenglikol lalu gerus hingga homogen. Setelah karbopol mengembang gerus terlebih dahulu dengan di tambahkan TEA sedikit sedikit hingga membentuk basis gel. Campuran gliserin dan metil paraben ditambahkan dalam basis gel sambil di gerus hingga homogen. Sisa propilenglikol ditambahkan dalam campuran basis, gerus hingga homogen. Campurkan gerusan ekstrak ke dalam basis gel dan gerus sampai homogen. Ditambahkan aquadest sedikit demi sedikit sampai 80 ml. sehingga nantinya akan didapatkan sediaan gel 20 mg. Kemudian setelah gel ekstrak kulit buah delima selesai dibuat gel dimasukan ke dalam tabung yang terlindung dari kontaminasi luar. Komposisi takaran gel ekstrak kulit buah delima antara lain: Karbopol 1 gram, Gliserol 2 gram, Propilenglikol 1 gram, Metil Paraben 0,03 gram, dan Aquadest 80 ml. Konsentrasi akhir gel ekstrak kulit buah delima dibuat pada dosis 10% dan 20%.⁷⁹

Formula gel yang akan dibuat yakni:

Tabel 4.1. Formula Krim ekstrak kulit delima.⁷⁹

Bahan	F 0%	F 10%	F 20%
Ekstrak kulit delima	0	10	20
Gliserol	2	2	2
Propylenglikol	1	1	1
Metil paraben	0,03	0,03	0,03
TEA	0,5	0,5	0,5
Karbopol	1	1	1
Aquadest	Ad 100	Ad 100	Ad 100

4.6.4 Persiapan Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan hewan uji tikus Wistar yang berumur 2-3 bulan dengan berat 200-250 gram. Tikus ditempatkan pada ruangan bersuhu

sekitar 28-32°C, dengan ruangan ventilasi yang cukup. Selama 7 hari tikus akan diadaptasi terlebih dahulu. Tikus diberi makanan pelet dan minuman air putih secukupnya.

Sampel yang diambil secara random berasal dari 30 ekor tikus Wistar, yang dibagi menjadi 5 kelompok. Tikus tersebut dikandangkan dalam 5 kandang yang terdiri atas kontrol sehat, kontrol dengan gel vitamin C, pemberian gel ekstrak kulit buah delima 10%, dan pemberian gel ekstrak kulit buah delima 20%. Masing masing kandang berisi 5+1 ekor tikus.

4.6.5 Paparan UV-B dan Pemberian Gel Ekstrak Kulit Buah Delima

1. Tikus yang diadaptasi selama 1 minggu dilakukan pembiusan dengan campuran ketamine (60mg/kgbb) dan xylazine (20mg/kgbb)
2. Bulu pada bagian pundak tikus Wistar di cukur dengan diameter ukuran 4x4 cm hingga bersih.
3. Punggung tikus Kelompok K2,K3,K4 dan K5 di beri paparan UV B (*broadband* dengan *emission* 302nm) dengan dosis minimal erythema 160 mj/cm²/hari selama 7 hari, dengan jarak paparan 12cm selama 15 menit.
4. Kelompok K3 diberikan gel vitamin C selama 7 hari)
5. Kelompok tikus K4 dan K5 kemudian diberi perlakuan secara topikal menggunakan gel ekstrak kulit buah delima 10% dan 20% yang diberikan satu kali sehari selama 7 hari setelah 1 jam paparan UVB.⁸⁰

4.6.6 Pengambilan Sampel Jaringan

Setelah pemberian perlakuan, hari ke 8 dilakukan pengambilan jaringan.

Sebelumnya semua tikus Wistar diterminasi terlebih dahulu dengan pembiusan pada tikus. Buat sayatan jaringan pada bagian kulit yang terpapar UV B, menggunakan gunting dan pinset. Sampel jaringan dipotong dan di timbang, selanjutnya jaringan ditambahkan dengan PBS (PH 7,4). Kemudian sampel jaringan di homogenisasi (dihancurkan) dalam kondisi dingin, 4°C, selanjutnya setrifus dengan kecepatan 2000-3000 rpm, selama 20 menit. Kemudian supernatan yaitu substansi hasil sentrifugasi yang memiliki bobot jenis yang lebih rendah diambil dan digunakan sebagai sampel uji. Apabila sampel akan disimpan terlebih dahulu, maka sampel dapat disimpan pada suhu -20°C.

4.6.7 Prosedur Validasi Jaringan Kulit dengan pewarnaan *Masson's Trichrome*.

Langkah-langkah pewarnaan *Masson's Trichrome* merupakan teknik pewarnaan histologi yang digunakan untuk menyoroti kolagen pada jaringan. Proses dimulai dengan penghilangan parafin, di mana preparat secara berturut-turut direndam dalam Xylene, Alkohol absolut, Alkohol 96%, Alkohol 80%, Alkohol 70%, dan Aquabides selama kurang lebih 2 menit untuk setiap tahapnya. Setelah itu, preparat ditempatkan dalam chamber kelembapan. Reagen A ditambahkan dengan jumlah yang sesuai, diikuti oleh reagen B dengan takaran yang tepat, kemudian chamber kelembapan ditutup, dan preparat didiamkan selama 10 menit. Tanpa dibilas dengan air, cairan pada preparat dibuang, lalu dikeringkan secara singkat selama 5 detik. Selanjutnya, reagen C ditambahkan dan didiamkan selama 4 menit, kemudian dibilas dengan Aquabides selama 3-4 detik. Proses ini diulang dengan penambahan

reagen D dan reagen E secara berturut-turut, masing-masing dengan waktu inkubasi 4 menit dan 10 menit, serta dibilas kembali dengan Aquabides setelah setiap tahap. Setelah reagen E dibuang tanpa dibilas, preparat dikeringkan selama 5 detik dan diberikan reagen F yang didiamkan selama 5 menit, lalu dibersihkan kembali dengan Aquabides. Tahap selanjutnya adalah proses dehidrasi bertahap dengan merendam preparat dalam Alkohol 70%, 80%, dan 96% secara cepat selama masing-masing 5-10 detik, kemudian dilanjutkan dengan Alkohol absolut dan Xylene masing-masing selama 1 menit. Setelah itu, dilakukan proses mounting. Hasil pengecatan akan menunjukkan warna biru untuk kolagen. Preparat yang telah siap kemudian dianalisis menggunakan perangkat lunak ImageJ dengan membandingkan densitas rasio dekonvolusi warna kolagen dan memisahkannya dari komponen latar belakang jaringan lainnya. Pengamatan kepadatan kolagen dilakukan dengan menghitung rerata jaringan ikat yang berwarna biru pada lima lapang pandang mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x.⁸¹

4.6.8 Proses ekstraksi RNA dan sintesis cDNA untuk ekspresi CD163.

Proses ekstraksi RNA dan sintesis cDNA dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

1. Sampel kulit dipotong menjadi bagian-bagian kecil sebanyak 50-100 mg dan dimasukkan dalam tube yang berisi 0,5 mL RNA Iso Plus. Potongan kulit dihaluskan dengan micropastel dan DNA RNase free, kemudian ditambahkan RNA Iso Plus sebanyak 0,5 ml lalu disimpan pada suhu ruang selama 5 menit. Kemudian tambahkan 0,2 mL *chloroform* dan divortex

sampai larutan sampai menjadi putih susu.

2. Melakukan Inkubasi 5 menit pada suhu kamar dan sentrifugasi selama 15 menit pada suhu 4°C dengan kecepatan 15.000 xg-force sampai larutan dalam tabung tiga lapisan.
3. Lapisan paling atas yang mengandung mRNA dipindahkan ke dalam microtube 2 mL, dengan perbandingan yang sama ditambahkan isopropanol.
4. Mengocok tabung microtube 2 mL hingga muncul benang putih, lalu sentrifugasi pada suhu 4°C pada kecepatan 12.000 xg-force selama 10 menit. Supernatan dibuang sampai pelet putih muncul di bagian bawah tabung.
5. Setelah kering, tambahkan 100 µL etanol 75% ke dalam larutan (Diethyl pyrocarbonat) DEPC kemudian dibolak balik beberapa kali kemudian disentrifugasi kembali pada suhu 4°C, kecepatan 15.000 xg-force selama 5 menit.
6. Supernatan dibuang dan ditambahkan DEPC sebanyak 50-100 µL pada suhu -80°C atau dapat digunakan pada penelitian selanjutnya..
7. Kemudian sebanyak 2 µL sampel RNA dikuantifikasi menggunakan Nano Drop dengan Panjang gelombang 260 nm. Hasil kuantifikasi akan dihitung untuk dijadikan 3000 ng.
8. Proses Sintesis cDNA dengan mencampurkan sampel RNA yang telah dihitung sebelumnya dengan 1 µL OligoDT dan PCR water mencapai volume 10 µL, kemudian campuran dimasukkan thermal cycler dan

diinkubasi selama 5 menit dengan suhu 70°C.

9. Kemudian ditambahkan 5X buffer 4 µL, DEPC-Treated H₂O 5 µL, ReverTraAce 1 µL.

10. Campuran kemudian diinkubasi pada suhu 45-50°C selama 30 menit.³³

4.6.9 Analisis Ekspresi CD163 metode RTq-PCR

Total RNA sel diisolasi dari sampel sel sesuai dengan protokol pabrik pembuatnya, dalam pelat 96-well menggunakan sistem deteksi PCR real-time 7500, dengan langkah-langkah sebagai berikut.³³

1. Analisis ekspresi CD163 menggunakan RTq-PCR, campuran dari 1 µL cDNA sampel, KAPPA SYBR FAST qPCR master mix sebanyak 10 µL, primer forward dan reverse spesifik pada masing-masing gen target sebanyak 1 µL dan *Nuclease Free Water* sejumlah 7 µL.
2. PCR produk kemudian dianalisis menggunakan RTq-PCR illumine dengan suhu predanaturasi pada suhu 95°C selama 2 menit, kemudian denaturasi 95°C dengan waktu 5 detik, kemudian di aneling 55-60°C selama 20 detik. Dengan total jumlah siklus 40 kali.
3. Peningkatan ekspresi gen CD163 dianalisis dalam ratio peningkatan terhadap *house keeping* gen dengan menggunakan *software EcoStudy*.

4.6.10 Proses preparasi jaringan untuk pemeriksaan ELISA

Pengambilan sampel kulit dari tikus pada bagian yang terpapar UVB. Sampel kulit kemudian dicuci dengan PBS untuk menghilangkan kotoran. Kulit dipotong kecil-kecil dan homogenisasi menggunakan alat homogenizer dalam RIPA buffer dengan kandungan protease inhibitor untuk mencegah degradasi

protein. Setelah homogenisasi, campuran disentrifugasi pada kecepatan tinggi untuk memisahkan supernatan yang mengandung protein. Supernatan ini kemudian dikumpulkan dan konsentrasinya diukur menggunakan metode analisis ELISA untuk mendeteksi dan mengukur target protein IL-1 β dan MMP-3.

4.6.11 Analisis kadar IL-10 metode ELISA

Sampel jaringan kulit yang sudah diperoleh kemudian dianalisis kadar IL-10 menggunakan metode ELISA. Analisis mengikuti prosedur yang dilampirkan dalam produk. Pembacaan kadar IL-10 menggunakan microplate reader dengan panjang gelombang 450nm. Tahapan pemeriksaan ELISA^{49,82} :

1. Pembuatan standard

Sepuluh sumuran pada mikroplate disiapkan untuk standard. Pada sumuran 1 dan 2, masukkan 100 μ l standard dan 50 μ l standard diluent, kemudian dicampur. Pada sumuran 3 dan 4, masukkan 100 μ l cairan dari sumuran 1 dan 2 dan 50 μ l standard diluent, kemudian dicampur. Pada sumuran 5 dan 6, masukkan 100 μ l cairan dari sumuran 3 dan 4 dan 50 μ l standard diluent, kemudian dicampur. Pada sumuran 7 dan 8, masukkan 100 μ l cairan dari sumuran 5 dan 6 dan 50 μ l standard diluent, kemudian dicampur. Pada sumuran 9 dan 10, masukkan 100 μ l cairan dari sumuran 7 dan 8 dan 50 μ l standard diluent, kemudian dicampur.

2. Ditambahkan Capture antibodi pada tiap sumuran. Kemudian dilakukan inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C atau selama semalam pada suhu 4°C.

3. Persiapan wash solution : larutkan wash solution 30x dengan aquadest (1 ml wash solution ditambahkan 29 ml aquadest).
4. Membuang cairan dari sumuran dan cuci sebanyak 5 kali dengan larutan pencuci yang telah disiapkan pada tahap 3.
5. Ditambahkan blocking buffer, untuk membuat antigen pada sampel menempel pada plate.
6. Inkubasi plate selama 60 menit, pada suhu 37°C atau selama semalam pada suhu 4°C.
7. Memasukkan 10 µl sampel dan 40 µl sampel diluent ke tiap sumuran. Sampel sebaiknya langsung dimasukkan ke dasar sumuran. Selanjutnya, dilakukan pencampuran sehingga sampel dan sampel diluent tercampur dengan baik.
8. Inkubasi plate selama 120 menit pada suhu ruangan.
9. Menambahkan 100 µl biotinylated antibodi pada tiap sumuran.
10. Inkubasi plate selama 60 menit, pada suhu 37°C atau selama semalam pada suhu 4°C.
11. Membuang cairan dari sumuran dan cuci sumuran sebanyak 5 kali dengan larutan pencuci yang telah disiapkan pada tahap 3.
12. Menambahkan 100 µl ABC solution pada tiap sumuran, kemudian Inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C.
13. Membuang cairan dari sumuran dan cuci sumuran sebanyak 5 kali dengan larutan pencuci yang telah disiapkan pada tahap 3.
14. menambahkan 90 µl HRP-conjugate dan 90 µl TMB pada tiap sumuran.

15. Inkubasi plate selama 30 menit, pada suhu 37°C.
16. Menambahkan 100 µl stop solution pada tiap sumuran, sehingga akan terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning.
17. Selanjutnya, baca nilai OD (*optical density*) pada panjang gelombang 450 nm pada ELISA reader
18. Didapatkan nilai OD dari sampel.

4.7 Analisis Hasil

Analisis hasil ekspresi CD163 dan kadar IL-10 pada penelitian dilakukan uji statistik deskriptif untuk menggambarkan rerata dan standar deviasi, kemudian dilakukan pengujian normalitas data dengan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas data dengan *Levene test* karena jumlah sampel <50 sampel.

Hasil data Analisis ekspresi CD163 didapatkan normal dan homogen ($P > 0,05$), maka dilakukan uji *One Way Anova* untuk mengetahui perbedaan lebih dari dua kelompok dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* untuk mengetahui pasangan kelompok mana yang berbeda, sedangkan hasil data analisis kadar IL-10 ditemukan sebaran data yang tidak normal dan tidak homogen, maka dilakukan uji non parametrik yaitu uji *Kruskal Wallis* perbedaan lebih dari dua kelompok dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui pasangan kelompok mana yang berbeda.⁸³ Keputusan untuk diterima atau ditolak hipotesis penelitian berdasarkan α 5 % dan pengolahan analisis data dengan menggunakan aplikasi SPSS 26.⁸⁴

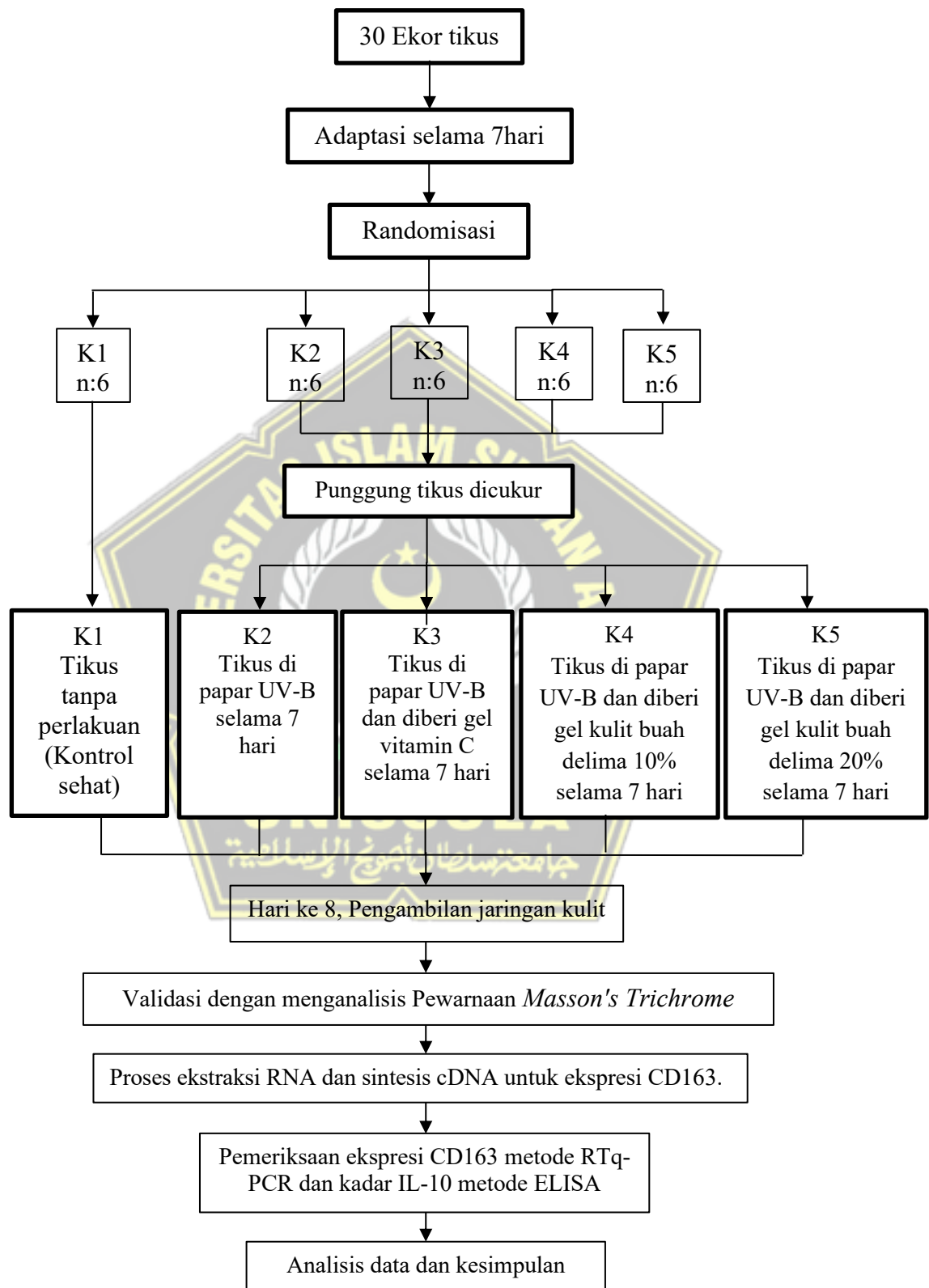
4.8 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium (SCCR) *Stem Cell and Cancer*

Research Semarang Jawa Tengah pada bulan Oktober-November 2024.



4.9 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Skema Alur Penelitian

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian gel ekstrak kulit buah delima terhadap ekspresi CD163 dan kadar IL-10, menggunakan 30 ekor tikus wistar jantan yang dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol sehat, kelompok tikus dipapar sinar UVB dan diberikan gel vitamin C, kelompok tikus dipapar sinar UVB dan diberikan gel vitamin C, kelompok tikus dipapar sinar UVB dan diberikan gel ekstrak kulit buah delima 10%, dan kelompok tikus dipapar sinar UVB dan diberikan gel ekstrak kulit buah delima 20%. Selama proses penelitian tidak ada tikus yang didrop out karena mati.

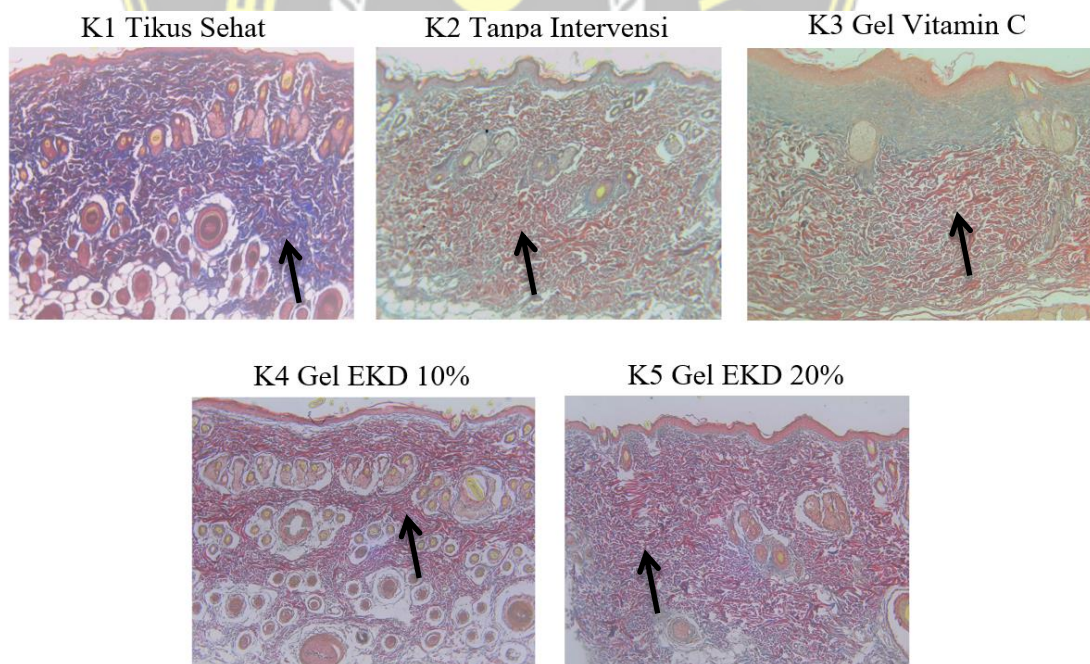
Subjek diberi paparan UVB (*broadband* dengan *emission* 302nm) dengan dosis minimal erythema 160 mJ/cm²/hari selama 7 hari dengan jarak paparan 12cm selama 15 menit, setelah 1 jam paparan UVB dioleskan ekstrak kulit buah delima 10% dan 20% pada kelompok K4 dan K5, hari ke-8 tikus diterminasi untuk dilakukan pengambilan sampel dan dianalisis dengan metode RTq-PCR untuk ekspresi CD163 dan metode ELISA untuk kadar IL-10.

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil validasi pewarnaan *Masson's Trichrome*

Hasil validasi histologi jaringan kulit pada tiap kelompok menggunakan pewarnaan *Masson's Trichrome* menunjukkan perbedaan struktur kulit pada setiap perlakuan (Gambar 5.1). Perlakuan K1 (kontrol sehat) memperlihatkan jaringan kulit dengan struktur normal, ketebalan epidermis yang terjaga, serta

serat kolagen yang padat dan tersusun rapi, mencerminkan kondisi kulit yang sehat tanpa paparan UVB. Sebaliknya, Perlakuan K2 (kontrol negatif, paparan UVB tanpa intervensi) menunjukkan adanya penebalan epidermis (hiperplasia) akibat kerusakan dari UVB, serta serat kolagen yang berkurang dan tidak tersusun rapi, menandakan degradasi kolagen dan stres oksidatif. Peningkatan area warna biru pada pewarnaan *Masson's Trichrome* juga mengindikasikan fibrosis atau gangguan struktur kolagen. Sementara itu, Perlakuan K3 (kontrol positif, paparan UVB + gel vitamin C) menunjukkan perbaikan jaringan dibandingkan K2, dengan serat kolagen lebih terjaga dan epidermis yang mulai menipis meskipun masih mengalami sedikit hiperplasia, menunjukkan peran antioksidan vitamin C dalam regenerasi kulit. Seperti pada gambar 5.3 berikut:



Gambar 5.1 Histologi jaringan kulit dengan pewarnaan *Masson's Trichrome* tiap kelompok pada mikroskop perbesaran 400x

Kelompok perlakuan K4 (paparan UVB + gel ekstrak kulit buah delima 10%), epidermis tampak lebih normal dengan ketebalan yang mulai berkurang, serta serat kolagen lebih banyak dan lebih terorganisir, menandakan efek protektif dari ekstrak kulit buah delima dalam menghambat degradasi kolagen. Warna biru pada pewarnaan *Masson's Trichrome* juga berkurang dibandingkan K2, mengindikasikan penurunan fibrosis dan peningkatan kualitas matriks ekstraseluler. Perlakuan K5 (paparan UVB + gel ekstrak kulit buah delima 20%) menunjukkan struktur epidermis yang mendekati normal, dengan serat kolagen yang lebih padat dan tersusun rapi, menyerupai kondisi kontrol sehat (K1). Warna biru pada pewarnaan semakin berkurang, menandakan pengurangan fibrosis dan peningkatan regenerasi jaringan. Secara keseluruhan, perlakuan dengan ekstrak kulit buah delima 20% menunjukkan efektivitas yang lebih baik dalam menjaga sintesis dan stabilitas kolagen serta mempercepat pemulihan jaringan kulit dibandingkan dosis 10%. Dengan validasi ini, dapat dipastikan bahwa paparan UVB benar-benar menyebabkan kerusakan jaringan kulit yang sesuai sebagai model eksperimen, sehingga hasil intervensi dengan gel ekstrak kulit delima dapat dianalisis secara valid dan reliabel dalam penelitian ini.

5.1.2 Hasil analisis ekspresi CD163

Hasil analisis ekspresi CD163 yang diperoleh, seperti yang tercantum pada Tabel 5.1, menunjukkan rata-rata ekspresi CD163 pada tiap kelompok sampel yang diuji sebagai berikut:

Tabel 5.1 Hasil penelitian ekspresi CD163 (CD163 mRNA relative expression (x))

Kelompok	K1 Tikus sehat n=5	K2 Tanpa Intervensi n=5	K3 Vitamin C n=5	K4 Gel EKD 10% n=5	K5 Gel EKD 20 % n=5	<i>P value</i>
Mean±SD (CD163 mRNA relative expresion (x))	1,00±0,00	1,69±0,11	3,52±0,34	1,72±0,89	2,72±0,22	
<i>Shapiro-Wilk</i>	-	0,166	0,699	0,898	0,689	
<i>Lavene Test</i>						0,146
<i>One way Anova</i>						0,000

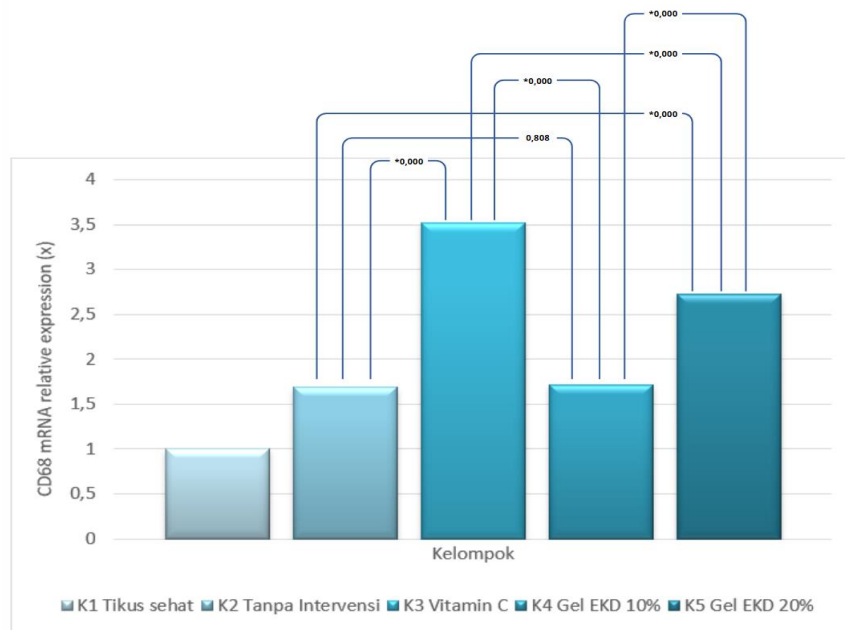
Keterangan: *Shapiro-Wilk* = Normal ($p > 0,05$)
Leuvene Test = Homogen ($p > 0,05$)
One way Anova = Signifikan ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil rata-rata (Tabel 5.1) pada ekspresi CD163 paling tinggi yaitu kelompok pemberian gel vitamin C yaitu sebesar 3,52±0,34. Ekspresi CD163 lebih rendah dengan pemberian gel ekstrak kulit buah delima 10% dan 20% pada uji deskriptif dibanding dengan kelompok tanpa intervensi masing-masing sebesar 1,72±0,89 dan 2,72±0,22. Dari hasil uji *One way anova* didapatkan $p = 0,000$ ($p < 0,05$) sehingga dinyatakan terdapat perbedaan signifikan ekspresi CD163 antar semua kelompok. Hasil uji *One way anova* yang signifikan dilanjutkan dengan uji *Post hoc LSD* untuk mengetahui pasangan kelompok yang berbeda (Tabel 5.2)

Tabel 5.2 Hasil uji *Post hoc LSD* ekspresi CD163 antar kelompok penelitian

Kelompok	K2	K3	K4	K5
K1	*0,000	*0,000	*0,000	*0,000
K2		*0,000	0,792	*0,000
K3			*0,000	*0,000
K4				*0,000

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



Gambar 5.2 Grafik histogram rata-rata ekspresi CD163 (CD163 mRNA relative expression (x))

Berdasarkan hasil uji lanjut *Post hoc LSD* terhadap ekspresi CD163 menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok tanpa intervensi (K2) dengan kelompok gel vitamin C (K3) $p=0,000$ ($p<0,05$), dimana pemberian vitamin C (K3) mempengaruhi ekspresi CD163 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang dipapar namun tidak diberikan intervensi (K2), pada kelompok perlakuan dengan gel ekstrak kulit buah delima 20% (K5) ekspresi CD163 lebih tinggi $p=0,000$ jika dibandingkan kelompok tanpa intervensi (K2) namun lebih rendah dari kelompok gel vitamin C (K3). Kelompok yang diberikan gel ekstrak kulit buah delima 10% (K4) memiliki perbedaan yang tidak bermakna dibandingkan kelompok tanpa intervensi (K2), Dapat disimpulkan bahwa pemberian gel vitamin C lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian gel ekstrak kulit buah delima 20%.

5.1.3 Hasil analisis kadar IL-10

Hasil analisis kadar IL-10 yang diperoleh, seperti yang tercantum pada Tabel 5.3, menunjukkan rata-rata kadar IL-10 pada tiap kelompok sampel yang diuji sebagai berikut:

Tabel 5.3 Hasil penelitian kadar IL-10 (pg/mL)

Kelompok	K1 Tikus Sehat n=5	K2 Tanpa Intervensi n=5	K3 Vitamin C n=5	K4 Gel EKD 10% n=5	K5 Gel EKD 20 % n=5	<i>P</i> <i>value</i>
Mean	91,48	24,28	46,61	80,90±	72,16	
±SD (pg/mL)	±26,94	±7,79	±15,98	9,96	±12,98	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,699	0,014	0,615	0,163	0,368	
<i>Lavene Test</i>						0,374
<i>Kruskal Wallis</i>						0,001

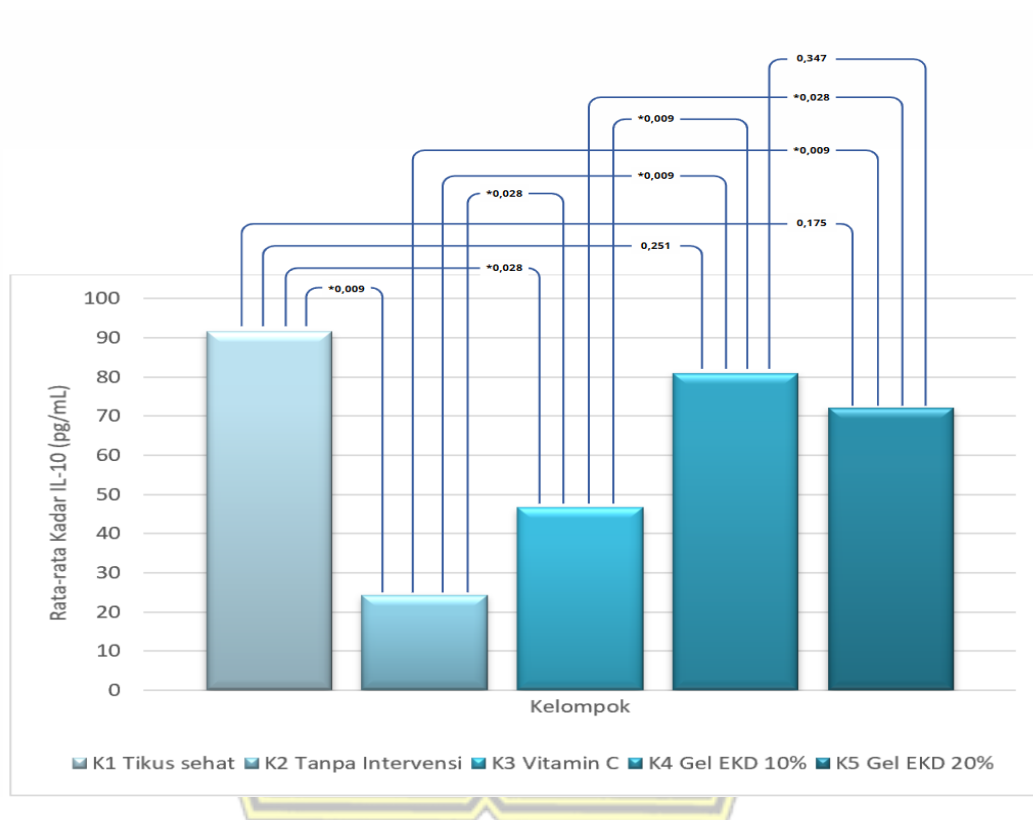
Keterangan: *Shapiro-Wilk* = Normal ($p > 0,05$)
Leuvene Test = Homogen ($p > 0,05$)
Kruskal Wallis = Signifikan ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil rata-rata (Tabel 5.3) pada kadar IL-10 paling tinggi yaitu kelompok tikus sehat sebesar 91,48±26,94. Kadar IL-10 paling rendah pada kelompok dipapar UVB tanpa intervensi sebesar 24,28±7,79. Kelompok yang diberikan gel ekstrak kulit buah delima 10% dan 20% lebih tinggi dibandingkan kelompok yang diberikan gel vitamin C masing masing sebesar 80,90±9,96 dan 72,16±12,98. Dari hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan p 0,001 ($p < 0,05$) sehingga dinyatakan terdapat perbedaan signifikan kadar IL-10 antar semua kelompok. Hasil uji *Kruskal Wallis* yang signifikan dilanjutkan dengan uji *Mann whitney* untuk mengetahui pasangan kelompok yang berbeda (Tabel 5.4)

Tabel 5.4 Hasil uji *Mann Whitney* kadar IL-10 jaringan kulit tikus dengan luka iris

Kelompok	K2	K3	K4	K5
K1	*0,009	*0,028	0,251	0,175
K2		*0,028	*0,009	*0,009
K3			*0,009	*0,028
K4				0,347

Keterangan: *Bermakna $p < 0,05$



Gambar 5.3 Grafik histogram rata-rata kadar IL-10 pada 5 kelompok (pg/mL)

Berdasarkan hasil uji lanjut *Mann Whitney* terhadap kadar IL-10 menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok tikus sehat (K1) dibandingkan kelompok tanpa intervensi (K2), hal ini membuktikan paparan UVB menyebabkan kadar IL-10 lebih rendah melalui stres oksidatif, peningkatan sitokin proinflamasi, serta gangguan jalur transkripsi IL-10. Perbedaan yang tidak bermakna terlihat pada kelompok yang diberikan gel

ekstrak kulit buah delima 10% (K4) dibandingkan ekstrak kulit buah delima 20% (K5) $p=0,347$ menunjukkan kadar IL-10 lebih tinggi pada K4 dan K5 memiliki pengaruh yang sama, namun dibandingkan dengan kelompok gel vitamin C (K3) berbeda bermakna, kadar lebih rendah pada kelompok K3 berbeda dengan K4 maupun K5. Dapat disimpulkan pemberian gel ekstrak kulit buah delima 10% dan 20 memberikan pengaruh yang sama terhadap kadar IL-10 lebih tinggi dari gel vitamin C.

5.1 Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekspresi CD163 tertinggi pada kelompok yang diberikan gel vitamin C, sementara kelompok yang diberikan gel ekstrak kulit buah delima 10% dan 20% memiliki ekspresi CD163 yang lebih rendah dibandingkan kelompok tanpa intervensi. Adanya perbedaan signifikan antara kelompok tanpa intervensi (K2) dengan kelompok yang diberikan gel vitamin C menunjukkan bahwa pemberian vitamin C mampu secara signifikan meningkatkan ekspresi CD163 dibandingkan kondisi tanpa intervensi. Selain itu, kelompok yang diberikan gel ekstrak kulit buah delima 20% (K5) juga menunjukkan peningkatan ekspresi CD163 yang signifikan dibandingkan kelompok tanpa intervensi meskipun nilainya tetap lebih rendah dibandingkan kelompok gel vitamin C.

Kelompok yang diberikan gel ekstrak kulit buah delima 10% (K4) tidak menunjukkan perbedaan signifikan dalam ekspresi CD163 dibandingkan kelompok tanpa intervensi (K2). Dosis 10% belum cukup untuk memicu peningkatan ekspresi CD163 dengan maksimal.⁸⁵

Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan bahwa vitamin C lebih efektif dalam meningkatkan ekspresi CD163 dibandingkan ekstrak kulit delima, bahkan pada dosis tertinggi (20%). Efek ini disebabkan oleh sifat vitamin C sebagai antioksidan kuat yang dapat langsung menstimulasi diferensiasi makrofag ke fenotip M2, yang ditandai dengan peningkatan ekspresi CD163.¹⁰ Sebaliknya, ekstrak kulit delima bekerja melalui mekanisme yang lebih kompleks, seperti modulasi jalur antioksidan dan inflamasi, yang mungkin membutuhkan dosis lebih tinggi atau waktu paparan lebih lama untuk mencapai efek yang setara.⁶⁴

Mekanisme kerja vitamin C melibatkan jalur STAT6, IL-4, NF- κ B, dan HIF-1 α , yang secara langsung mendorong diferensiasi makrofag ke fenotip M2, sehingga mempercepat proses antiinflamasi dan regenerasi jaringan. Sementara itu, ekstrak kulit buah delima 20% juga berkontribusi dalam meningkatkan ekspresi CD163, tetapi melalui jalur NRF2-KEAP1 dan NADPH oksidase, yang memerlukan waktu lebih lama untuk menunjukkan efek optimal. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun ekstrak kulit buah delima memiliki potensi sebagai agen antiinflamasi, efektivitasnya masih bergantung pada dosis dan mekanisme yang lebih bertahap dibandingkan vitamin C.⁸⁶

Pemilihan intervensi bergantung pada tujuan terapi. Jika target utama adalah peningkatan ekspresi CD163 untuk mendukung regenerasi jaringan dan respon imun, maka vitamin C merupakan pilihan yang lebih efektif. Namun, ekstrak kulit delima tetap dapat menjadi alternatif alami yang menjanjikan, terutama dengan optimasi dosis dan durasi terapi yang lebih panjang.⁸⁷

Hasil penelitian menunjukkan kelompok yang dipapar sinar UVB dibandingkan dengan kelompok tikus sehat kadar IL-10 lebih rendah, hal ini membuktikan paparan UV B (*broadband* dengan *emission* 302nm) dengan dosis minimal erythema 160 mj/cm²/hari selama 7 hari, dengan jarak paparan 12cm menyebabkan kadar IL-10 menjadi lebih rendah. Paparan UVB dapat menyebabkan apoptosis pada keratinosit dan sel imun, termasuk sel yang menghasilkan IL-10. Akibatnya, kadar IL-10 menurun, dan respons inflamasi menjadi lebih dominan. Paparan UVB merusak sel dendritik, menurunkan aktivasi Treg, dan mengurangi kadar IL-10, yang berkontribusi pada peningkatan peradangan yang menyebabkan kemerahan, edema, pengelupasan, dan percepatan penuaan kulit akibat peradangan berlebihan yang tidak dapat dikendalikan karena rendahnya IL-10.¹¹⁴⁸

Pada kelompok gel ekstrak kulit buah delima 20% mampu meningkatkan ekspresi CD163 namun tidak lebih tinggi menggunakan gel vitamin C, sedangkan gel ekstrak kulit buah delima 10% tidak memberikan pengaruh dalam meningkatkan ekspresi CD163 yang justru sama dengan kelompok tanpa intervensi, dosis gel ekstrak kulit buah delima 10% mungkin tidak cukup tinggi untuk memicu stimulasi makrofag yang menyebabkan peningkatan CD163. Sedangkan pada kadar IL-10, kelompok gel ekstrak kulit buah delima 10% dan 20% menunjukkan kadar lebih tinggi dan lebih baik dari pada gel vitamin C. Ekstrak kulit delima kaya akan punicalagin, ellagic acid, dan flavonoid yang mengaktifkan jalur NRF2-KEAP1, meningkatkan ekspresi enzim antioksidan seperti SOD dan GPx, serta menurunkan produksi ROS, sehingga mengurangi

stres oksidatif dan memicu peningkatan IL-10 oleh makrofag M2. Selain itu, gel ekstrak kulit delima juga mendorong diferensiasi makrofag ke fenotip M2 melalui inhibisi jalur NF- κ B dan aktivasi STAT3, yang berperan dalam meningkatkan ekspresi IL-10 serta mempercepat regenerasi jaringan. Mekanisme lain yang berkontribusi adalah penghambatan NADPH oksidase, yang mengurangi produksi radikal bebas dan menjaga keseimbangan inflamasi, sehingga semakin meningkatkan kadar IL-10 dan memperkuat efek antiinflamasi.⁸⁸

Pemberian gel ekstrak kulit buah delima 20% memberikan pengaruh paling baik terhadap ekspresi CD163 lebih tinggi dibandingkan dosis gel ekstrak kulit buah delima 10%. Peningkatan konsentrasi ekstrak kulit delima dari 10% ke 20% memberikan jumlah senyawa bioaktif yang lebih tinggi, yang dapat lebih efektif dalam memodulasi jalur-jalur molekuler tersebut. Hal ini dapat menyebabkan peningkatan rekrutmen atau aktivasi makrofag, yang ditandai dengan peningkatan ekspresi CD163. Penelitian menunjukkan bahwa kandungan flavonoid pada kulit buah delima dapat berpotensi sebagai imunostimulan yang merangsang sel-sel fagosit seperti makrofag untuk menjalankan fungsinya.⁸⁹ Dengan demikian, peningkatan dosis ekstrak kulit delima menjadi 20% dapat memberikan efek yang lebih kuat dalam modulasi aktivitas makrofag, yang tercermin dari peningkatan ekspresi CD163.

Berbeda dengan pemberian gel ekstrak kulit buah delima 10% dan 20% memberikan pengaruh yang sama pada kadar IL-10 yang lebih tinggi, artinya

menggunakan dosis lebih rendah yaitu gel ekstrak kulit buah delima 10% sudah cukup efektif dalam meningkatkan kadar IL-10 pada jaringan kulit tikus yang dipapar sinar UVB. Efektivitas konsentrasi 10% dalam meningkatkan kadar IL-10 mungkin disebabkan oleh saturasi reseptor atau jalur sinyal yang terlibat pada konsentrasi tersebut, sehingga peningkatan dosis hingga 20% tidak memberikan efek tambahan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa dosis 10% sudah mencapai ambang efektif untuk memodulasi jalur molekuler yang berperan dalam peningkatan IL-10. Penelitian lain juga mendukung temuan ini, di mana formulasi ekstrak kulit buah delima dalam berbagai konsentrasi menunjukkan efektivitas yang serupa dalam aplikasi topikal, tanpa perbedaan signifikan antara konsentrasi yang lebih rendah dan lebih tinggi.¹³ Dengan demikian, penggunaan gel ekstrak kulit buah delima dengan konsentrasi 10% sudah cukup efektif untuk meningkatkan kadar IL-10 pada jaringan kulit yang terpapar sinar UVB, melalui mekanisme molekuler yang melibatkan pengaturan stres oksidatif dan modulasi respon inflamasi.

Dosis ekstrak kulit buah delima berpengaruh terhadap mekanisme imun yang ditargetkan. Untuk meningkatkan infiltrasi makrofag (CD163), dosis yang lebih tinggi (20%) lebih efektif karena dapat merangsang aktivasi dan perekrutan makrofag dalam jumlah lebih besar. Sebaliknya, untuk meningkatkan efek antiinflamasi melalui peningkatan kadar IL-10, dosis yang lebih rendah (10%) sudah cukup, menunjukkan bahwa stimulasi jalur antiinflamasi telah mencapai ambang efektivitasnya pada dosis tersebut. Oleh karena itu, pemilihan dosis harus disesuaikan dengan tujuan terapi. Jika target utama adalah menekan

inflamasi, dosis 10% sudah memadai, tetapi jika tujuannya adalah meningkatkan regenerasi jaringan melalui infiltrasi makrofag yang lebih banyak, maka dosis 20% lebih disarankan. Temuan ini menegaskan pentingnya memahami mekanisme kerja bahan aktif dalam ekstrak kulit delima agar dapat dimanfaatkan secara optimal sesuai dengan kebutuhan terapi.

Penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan terhadap parameter proinflamasi untuk mengevaluasi apakah dosis 10% ekstrak kulit delima memiliki efek dalam menekan peradangan. Dengan kata lain, penelitian hanya berfokus pada parameter antiinflamasi (seperti IL-10) tanpa menilai apakah dosis 10% juga mampu menurunkan kadar sitokin atau mediator inflamasi lainnya, seperti TNF- α , IL-6, atau NF- κ B. Akibatnya, efektivitas dosis 10% dalam menghambat proses inflamasi secara langsung belum dapat dipastikan tanpa adanya data dari parameter proinflamasi. Studi klinis lebih lanjut juga dapat mengevaluasi keamanan dan efektivitasnya pada manusia untuk mengonfirmasi hasil yang diperoleh dari model hewan sebelum digunakan dalam terapi klinis.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. Pemberian gel ekstrak kulit buah delima berpengaruh terhadap ekspresi CD163 dan kadar IL-10 pada tikus jantan galur *Wistar* yang dipapar sinar UV-B
2. Terdapat perbedaan ekspresi CD163 lebih rendah pada kelompok yang diberikan gel ekstrak kulit buah delima dosis 10% dan 20% dibandingkan kelompok yang diberikan gel vitamin C
3. Terdapat perbedaan IL-10 lebih tinggi pada kelompok yang diberikan gel ekstrak kulit buah delima dosis 10% dan 20% dibandingkan kelompok yang diberikan gel vitamin C

6.2. Saran

1. Melakukan penelitian menggunakan gel ekstrak kulit buah delima dosis 10% karena dosis 10% memberikan pengaruh paling baik pada mekanisme inflamasi, dengan parameter lainnya pada mediator proinflamasi seperti TNF- α , IL-6, atau NF- κ B dengan tujuan mengetahui efektivitas dosis 10% dalam menekan inflamasi secara langsung
2. Melakukan uji klinis lebih lanjut untuk mengevaluasi keamanan dan efektivitas gel ekstrak kulit buah delima pada manusia, dengan memasukkan parameter proinflamasi guna memperoleh gambaran yang lebih komprehensif tentang mekanisme antiinflamasi yang dimiliki.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gromkowska-Kępa KJ, Puścion-Jakubik A, Markiewicz-Żukowska R, Socha K. The impact of ultraviolet radiation on skin photoaging — review of in vitro studies. *J Cosmet Dermatol*. 2021;20(11):3427-3431. doi:10.1111/jocd.14033
2. Poon F, Kang S, Chien AL. Mechanisms and treatments of photoaging. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2015;31(2):65-74. doi:10.1111/phpp.12145
3. Estebarsari F, Dastoorpoor M, Khalifehkandi ZR, et al. The Concept of Successful Aging: A Review Article. *Curr Aging Sci*. 2019;13(1):4-10. doi:10.2174/1874609812666191023130117
4. Wulan Dhari, Ali Napiyah Nasution, Djohan, et al. Test the Effectiveness of Carrot Tuber Ethanol Extract Cream Preparation Formulation in Preventing Increased Melanin in Male Wistar Rats Exposed to UVB Light. *Jurnal Multidisiplin Madani*. 2023;3(6):1290-1311. doi:10.55927/mudima.v3i6.3535
5. Haerani A, Chaerunisa AY, Subranas A. Artikel Tinjauan: Antioksidan untuk kulit. *Farmaka*. 2018;16:135-151.
6. Shaygannia E, Bahmani M, Zamanzad B, Rafieian-Kopaei M. A Review Study on Punica granatum L. *J Evid Based Complementary Altern Med*. 2016;21(3):221-227. doi:10.1177/2156587215598039
7. Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Photoaging: UV radiation-induced inflammation and immunosuppression accelerate the aging process in the skin. *Inflammation Research*. 2022;71(7-8):817-831. doi:10.1007/s00011-022-01598-8
8. Komori H, Watanabe H, Shuto T, et al. α 1-acid glycoprotein up-regulates CD163 via TLR4/CD14 protein pathway: Possible protection against hemolysis-induced oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*. 2012;287(36):30688-30700. doi:10.1074/jbc.M112.353771
9. Kennedy Crispin M, Fuentes-Duculan J, Gulati N, et al. Gene profiling of narrowband UVB-induced skin injury defines cellular and molecular innate immune responses. *Journal of Investigative Dermatology*. 2013;133(3):692-701. doi:10.1038/jid.2012.359
10. Etzerodt A, Moestrup SK. CD163 and inflammation: Biological, diagnostic, and therapeutic aspects. *Antioxid Redox Signal*. 2013;18(17):2352-2363. doi:10.1089/ars.2012.4834
11. Singampalli KL, Balaji S, Wang X, et al. The Role of an IL-10/Hyaluronan Axis in Dermal Wound Healing. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8(July):1-15. doi:10.3389/fcell.2020.00636
12. Sangkota R, Hussaana A, Chodidjah C. The Effect of Pomegranate Peel Extract on Collagen Total, Interleukin-6 and Vascular Endothelial

- Growth Factor Receptor (VEGF) Levels. *International Journal of Multidisciplinary Research and Analysis*. 2023;06(01):436-444. doi:10.47191/ijmra/v6-i1-48
13. Wattimena JH, Darsono FL HL. Formulasi Ekstrak Kering Kulit Buah Delima (*Punica granatum* L .) Sebagai Masker Wajah dalam Bentuk Peel-Off Gel The Formulation of Pomegranate Peel Fruit (*Punica granatum* L .) in Peel – Off Face Mask Gel. *Journal Of Pharmacy Science an Practice*. 2020;7(1):74-80.
 14. Houston DMJ, Bugert J, Denyer SP, Heard CM. Anti-inflammatory activity of *Punica granatum* L. (Pomegranate) rind extracts applied topically to ex vivo skin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2017;112:30-37. doi:10.1016/j.ejpb.2016.11.014
 15. Sharma U, Arjariya S, Chouksey R, Sharma N. A Review: Formulation and Evaluation of Pharmaceutical Gel. *J Pharm Negat Results*. 2022;13(1):1344-1362. doi:10.47750/pnr.2022.13.S01.160
 16. Čolić M, Bekić M, Tomić S, et al. Immunomodulatory Properties of Pomegranate Peel Extract in a Model of Human Peripheral Blood Mononuclear Cell Culture. *Pharmaceutics*. 2022;14(6). doi:10.3390/pharmaceutics14061140
 17. Nayak BS, Sandiford S, Maxwell A. Evaluation of the wound-healing activity of ethanolic extract of *Morinda citrifolia* L. leaf. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2009;6(3):351-356. doi:10.1093/ecam/nem127
 18. Gromkowska-Kępa KJ, Puścion-Jakubik A, Markiewicz-Żukowska R, Socha K. The impact of ultraviolet radiation on skin photoaging — review of in vitro studies. *J Cosmet Dermatol*. 2021;20(11):3427-3431. doi:10.1111/jocd.14033
 19. Holman DM, Ding H, Guy GP, Watson M, Hartman AM, Perna FM. Prevalence of sun protection use and sunburn and association of demographic and behavioral characteristics with sunburn among US adults. *JAMA Dermatol*. 2018;154(5):561-568. doi:10.1001/jamadermatol.2018.0028
 20. Nobile V, Zanoletti V, Manzoni V, Romagnoli S, Cestone E. Soothing Effect of a Cosmetic Product on Skin Discomforts Induced by a Chemical Irritant (Capsaicin) and UV-Radiation, and after Mosquito Bites and Sunburn in a Real-World Setting. *Cosmetics*. 2022;9(6). doi:10.3390/cosmetics9060130
 21. Sun X, Zhang N, Yin C, Zhu B, Li X. Ultraviolet Radiation and Melanomagenesis: From Mechanism to Immunotherapy. *Front Oncol*. 2020;10(July). doi:10.3389/fonc.2020.00951
 22. González Maglio DH, Paz ML, Leoni J. Sunlight Effects on Immune System: Is There Something Else in addition to UV-Induced Immunosuppression? *Biomed Res Int*. 2016;2016. doi:10.1155/2016/1934518
 23. Ryser S, Schuppli M, Gauthier B, et al. UVB-induced skin inflammation and cutaneous tissue injury is dependent on the MHC class I-like

- protein, CD1d. *Journal of Investigative Dermatology*. 2014;134(1):192-202. doi:10.1038/jid.2013.300
24. Gallo RL, Bernard JJ. Innate immune sensors stimulate inflammatory and immunosuppressive responses to UVB radiation. *Journal of Investigative Dermatology*. 2014;134(6):1508-1511. doi:10.1038/jid.2014.32
 25. Lopes DM, McMahon SB. Ultraviolet Radiation on the Skin: A Painful Experience? *CNS Neurosci Ther*. 2016;22(2):118-126. doi:10.1111/cns.12444
 26. Nakamura M, Haarmann-Stemmann T, Krutmann J. COX inhibition enhances inflammatory immune cell infiltration in UV-irradiated human skin: Implications for the treatment of sunburn. *Exp Dermatol*. 2015;24(10):734-735. doi:10.1111/exd.12783
 27. Ferreira DW, Ulecia-morón C, Alvarado-vázquez PA, et al. HHS Public Access. 2021;225(1):1-31. doi:10.1016/j.imbio.2019.10.011.CD163
 28. Etzerodt A, Tsalkitzi K, Maniecki M, et al. Specific targeting of CD163+ TAMs mobilizes inflammatory monocytes and promotes T cell-mediated tumor regression. *Journal of Experimental Medicine*. 2019;216(10):2394-2411. doi:10.1084/jem.20182124
 29. Plevriti A, Lamprou M, Mourkogianni E, et al. The Role of Soluble CD163 (sCD163) in Human Physiology and Pathophysiology. *Cells*. 2024;13(20):1-18. doi:10.3390/cells13201679
 30. Skytthe MK, Graversen JH, Moestrup SK. Targeting of cd163+ macrophages in inflammatory and malignant diseases. *Int J Mol Sci*. 2020;21(15):1-31. doi:10.3390/ijms21155497
 31. Fuentes-duculan J, Suárez-fariñas M, Zaba LC, et al. Activated in Psoriasis. 2011;130(10):2412-2422. doi:10.1038/jid.2010.165.A
 32. Morita A. The Editor's Choice. *J Dermatol Sci*. 2012;68(1):1-2. doi:10.1016/s0923-1811(12)00253-8
 33. Deng X, Li S, Zhu Y, et al. Correction to: Assessment of the Macrophage Scavenger Receptor CD163 in Mediating *Glaesserella parasuis* Infection of Host Cells (Veterinary Sciences, (2023), 10, 3, (235), 10.3390/vetsci10030235). *Vet Sci*. 2023;10(7). doi:10.3390/vetsci10070458
 34. Pereira L, Font-Nieves M, Van den Haute C, Baekelandt V, Planas AM, Pozas E. IL-10 regulates adult neurogenesis by modulating ERK and STAT3 activity. *Front Cell Neurosci*. 2015;9(FEB). doi:10.3389/fncel.2015.00057
 35. Porro C, Cianciulli A, Panaro MA. The regulatory role of IL-10 in neurodegenerative diseases. *Biomolecules*. 2020;10(7):1-15. doi:10.3390/biom10071017
 36. Pereira L, Font-Nieves M, Van den Haute C, Baekelandt V, Planas AM, Pozas E. IL-10 regulates adult neurogenesis by modulating ERK and STAT3 activity. *Front Cell Neurosci*. 2015;9(FEB). doi:10.3389/fncel.2015.00057
 37. Eskdale J, Kube D, Tesch H, Gallagher G. *OR IGINAL PAPE R*.

- http://www.gsf.de/biodv/matinspector_help.html.
38. Zdanov' A, Schalk-Hihi C, Gustchina A, Tsang M, Weatherbee J, Wlodawer A. *Crystal Structure of Interleukin-10 Reveals the Functional Dimer with an Unexpected Topological Similarity to Interferon*.
 39. Lazear HM, Nice TJ, Diamond MS. Interferon- λ : Immune Functions at Barrier Surfaces and Beyond. *Immunity*. 2015;43(1):15-28. doi:10.1016/j.immuni.2015.07.001
 40. Dasanders Jbowen M. *Effects of Interleukins, Colony-Stimulating Factor and Tumour Necrosis Factor on Human Hair Follicle Growth in Vitro: A Possible Role for Interleukin-1 and Tumour Necrosis Factor- α in Alopecia Areata*. Vol 135.; 1996.
 41. Kubo M, Motomura Y. Transcriptional regulation of the anti-inflammatory cytokine IL-10 in acquired immune cells. *Front Immunol*. 2012;3(AUG). doi:10.3389/fimmu.2012.00275
 42. Berg DJ, Zhang J, Lauricella DM, Moore SA. *IL-10 Is a Central Regulator of Cyclooxygenase-2 Expression and Prostaglandin Production 1*. Vol 166.; 2001. <http://journals.aai.org/jimmunol/article-pdf/166/4/2674/1141015/2674.pdf>
 43. Fiorentino, D. F., Bond, M. W., Mosmann, T. R., et al. (2014). Two types of mouse T helper cell IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *Journal Name, Volume*(Issue), Page Numbers.
 44. Lobo-Silva D, Carriche GM, Castro AG, Roque S, Saraiva M. Balancing the immune response in the brain: IL-10 and its regulation. *J Neuroinflammation*. 2016;13(1). doi:10.1186/s12974-016-0763-8
 45. Saxton RA, Tsutsumi N, Su LL, et al. Structure-based decoupling of the pro- And anti-inflammatory functions of interleukin-10. *Science (1979)*. 2021;371(6535). doi:10.1126/science.abc8433
 46. De R, Malefyt W, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, De Vries JE. *Interleukin 10(EL, 10) Inhibits Cytokine Synthesis by Human Monocytes: An Autoregulatory Role of IL-10 Produced by Monocytes*. <http://rupress.org/jem/article-pdf/174/5/1209/1102030/1209.pdf>
 47. Sari WP, Gaya ML, Irianto G, Karisma N. Managemen Topikal Anti-Aging pada Kulit Topical Anti-Aging Management of the Skin. *Medula*. 2019;9(2):237-243.
 48. Putranti, I. O., Sistina, Y., Tengah, J., et al. (2023). Tinjauan pustaka: Fotobiologi ultraviolet pada jaringan kulit. *Mandala Journal*, 13(2). <https://doi.org/10.20884/1.mandala.2023.16.1.8379>
 49. Amelia V, Marlina, Sudji IR. Analysis Of Interleukin-10 Levels In Mesenchymal Stem Cell Secretome Cream With ELISA Method. *Bioteknologi & Biosains Indonesia*. 2023;10(2):203-210.
 50. Eh- CN. FineTest ® Human total SOD (superoxide dismutase) ELISA Kit. :1-16.
 51. Yazdanbakhsh K, Zhong H, Bao W, et al. Application of reverse transcription-PCR and real-time PCR in nanotoxicity research. Nanotoxicity: methods and protocols, 99-112. *Clin Hemorheol*

- Microcirc.* 2016;176(1):139-148. doi:10.1007/978-1-62703-002-1
52. Kim SW, Roh J, Park CS. Immunohistochemistry for pathologists: Protocols, pitfalls, and tips. *J Pathol Transl Med.* 2016;50(6):411-418. doi:10.4132/jptm.2016.08.08
 53. Minshawi F, Lanvermann S, McKenzie E, et al. The Generation of an Engineered Interleukin-10 Protein With Improved Stability and Biological Function. *Front Immunol.* 2020;11(August):1-18. doi:10.3389/fimmu.2020.01794
 54. Yusharyahya SN. Mekanisme Penuaan Kulit sebagai Dasar Pencegahan dan Pengobatan Kulit Menua. *eJournal Kedokteran Indonesia.* 2021;9(2):150. doi:10.23886/ejki.9.49.150
 55. Ain QU, Sarfraz M, Prasesti GK, Dewi TI, Kurniati NF. Confounders in identification and analysis of inflammatory biomarkers in cardiovascular diseases. *Biomolecules.* 2021;11(10):1-17. doi:10.3390/biom11101464
 56. Ahmad Z, Damayanti. Penuaan Kulit : Patofisiologi dan Manifestasi Klinis. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin – Periodical of Dermatology and Venereology.* 2018;30(03):208-215. [http://download.garuda.ristekdikti.go.id/article.php?article=850430&val=7405&title=Penuaan Kulit: Patofisiologi dan Manifestasi Klinis](http://download.garuda.ristekdikti.go.id/article.php?article=850430&val=7405&title=Penuaan%20Kulit:%20Patofisiologi%20dan%20Manifestasi%20Klinis)
 57. Putu Ayu Dewita Ganeswari, I Gusti Nyoman Darmaputra, Rusyati LMM. Kadar interleukin-10 serum yang tinggi berkorelasi dengan indeks bakteri yang tinggi pada penderita kusta tipe multibasiler. *Intisari Sains Medis.* 2022;13(3):771-777. doi:10.15562/ism.v13i3.1537
 58. Eghbali S, Askari SF, Avan R, Sahebkar A. Therapeutic Effects of Punica granatum (Pomegranate): An Updated Review of Clinical Trials. *J Nutr Metab.* 2021;2021. doi:10.1155/2021/5297162
 59. Andriani V. Karakterisasi Anatomi Delima (Punica granatum L.). *JStigma Journal of Science.* 2016;(9(2)):6-7. doi:10.2307/3894793
 60. Shaygannia E, Bahmani M, Zamanzad B, Rafieian-Kopaei M. A Review Study on Punica granatum L. *J Evid Based Complementary Altern Med.* 2016;21(3):221-227. doi:10.1177/2156587215598039
 61. Khwairakpam AD, Bordoloi D, Thakur KK, et al. Possible use of Punica granatum (Pomegranate) in cancer therapy. *Pharmacol Res.* 2018;133:53-64. doi:10.1016/j.phrs.2018.04.021
 62. Akbarnejad F. Dermatology Benefits of Punica Granatum: A Review of the Potential Benefits of Punica Granatum in Skin Disorders. *Asian Journal of Green Chemistry.* 2023;7(3):208-222. doi:10.22034/ajgc.2023.388077.1388
 63. Akbarnejad F. Dermatology Benefits of Punica Granatum: A Review of the Potential Benefits of Punica Granatum in Skin Disorders. *Asian Journal of Green Chemistry.* 2023;7(3):208-222. doi:10.22034/ajgc.2023.388077.1388
 64. Nazliniwaty, Laila L, Wahyuni M. Pemanfaatan Ekstrak Kulit Buah Delima (Punica granatum L.) dalam Formulasi Sediaan Lip Balm. *Jurnal Jamu Indonesia.* 2019;4(3):87-92. doi:10.29244/jji.v4i3.153

65. Wijanti T, Pahlani E, Lestari RK. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Delima (*Punica granatum L.*) Dari Dua Metode Ekstraksi. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*. 2023;23(2):14-22.
66. Rosida, S., Sidiq, H. B. H. F., & Apriliyanti, I. P. (2018). Evaluation of physical properties and irritation test of gel banana peel extract (*Musa acuminata Colla*). *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*, 2(1), 131-135.
67. Putri WE, Anindhita MA. Optimization of cardamom fruit ethanol extract gel with combination of HPMC and Sodium Alginate as the gelling agent using Simplex Lattice Design Optimasi formula gel ekstrak etanol buah kapulaga dengan kombinasi gelling agent HPMC dan Natrium Alginat men. *Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy) Special Edition*. Published online 2022:107-120. <http://journal.uui.ac.id/index.php/JIF>
68. Hagavane S, Sonawane S, Katkale A, Kunde V. Review on cream as topical drug delivery system. *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* www.pharmacyjournal.in-2022. 2022;7(1):21-30.
69. Ahmad A, Arfa FFDH, Asifa NS, Ika ZS, Safna Bina Nusriya, Tasya SN. Characterization and Application of Moisturizer In Skin Treatment: A Review. *Journal of Pakistan Association of Dermatologists*. 2023;33(4)(4):1602-1613.
70. Arnanda QP, Nuwarda RF. Penggunaan Radiofarmaka Teknisium-99M Dari Senyawa Glutation dan Senyawa Flavonoid Sebagai Deteksi Dini Radikal Bebas Pemicu Kanker. *Farmaka Suplemen*. 2019;14(1):1-15. <https://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/view/22071>
71. Asih DJ, Kadek Warditiani N, Gede I, Wiarsana S, Kunci K. Humantech Jurnal Ilmiah Multi Disiplin Indonesia Review Artikel: Aktivitas Antioksidan Ekstrak Amla (*Phyllanthus emblica / Emblica officinalis*). *Jurnal Ilmiah Multidisiplin Indonesia*. 2022;1(6):674-687.
72. Philippidis P, Mason JC, Evans BJ, et al. Hemoglobin Scavenger Receptor CD163 Mediates Interleukin-10 Release and Heme Oxygenase-1 Synthesis: Antiinflammatory Monocyte-Macrophage Responses In Vitro, in Resolving Skin Blisters In Vivo, and after Cardiopulmonary Bypass Surgery. *Circ Res*. 2004;94(1):119-126. doi:10.1161/01.RES.0000109414.78907.F9
73. Kwon KR, Alam MB, Park JH, Kim TH, Lee SH. Attenuation of UVB-induced photo-aging by polyphenolic-rich *spatholobus suberectus* stem extract via modulation of MAPK/AP-1/MMPs signaling in human keratinocytes. *Nutrients*. 2019;11(6). doi:10.3390/nu11061341
74. Kwon KR, Alam MB, Park JH, Kim TH, Lee SH. Attenuation of UVB-induced photo-aging by polyphenolic-rich *spatholobus suberectus* stem extract via modulation of MAPK/AP-1/MMPs signaling in human keratinocytes. *Nutrients*. 2019;11(6). doi:10.3390/nu11061341
75. Andarina R, Djauhari T. Antioksidan dalam dermatologi. *Jurnal*

- Kedokteran dan Kesehatan: Publikasi Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya. *JKK*. 2017;4(1):39-48.
76. Sonti S, Makino ET, Garruto JA, Gruber J V., Rao S, Mehta RC. Efficacy of a novel treatment serum in the improvement of photodamaged skin. *Int J Cosmet Sci*. 2013;35(2):156-162. doi:10.1111/ics.12018
77. Federer WT. Experimental Design Theory And Application, Third Edition, Oxford and IBH Publishing Co, New Delhi Bombay Calcuta. Published online 1977.
78. Lestari NE, Pratama R. Mutu fisik sediaan masker gel peel-off ekstrak kulit buah delima (*punica granatum L*) dengan perbandingan konsentrasi PVA. *Akademi Farmasi Putera Indonesia Malang*. Published online 2020:1-10.
79. Askandar, E. (2018). Terhadap ketebalan epitel pada penyembuhan luka ulkus traumatik mukosa tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi panas (Skripsi). *Malang*.
80. Hidayati N, Hatikhah NA, Putri WE, et al. The effect of long exposure to uvb rays on histological features of wistar rats (*Rattus norvegicus*) in photoaging model. *Bali Medical Journal*. 2023;12(3):3078-3083. doi:10.15562/bmj.v12i3.4393
81. Alfiaurrohman A, Herbani M, Andriana D. Efek Perasan Aloe vera L. terhadap Ketebalan Epitel dan Kepadatan Kolagen pada Luka Sayat Tikus Wistar. *Jurnal Bio Komplementer Medicine*. 2020;7(2):19.
82. Sobhan MR, Farshchian M, Hoseinzadeh A, Ghasemibasi HR, Solgi G. Serum levels of IL-10 and IL-22 cytokines in patients with psoriasis. *Iranian Journal of Immunology*. 2016;13(4):317-323. doi:10.1007/s13448-016-0317-3
83. Rozi F, Irma, Maulidiya D. Analisis perubahan inflasi beberapa kota besar di indonesia dengan menggunakan uji kruskal-wallis. *Multi Proximity: Jurnal Statistika Universitas Jambi*. 2022;1(2):103-115. <https://online-journal.unja.ac.id/multiproximity><https://doi.org/10.22437/multiproximity.v1i2.21418>
84. Akbar R, Sukmawati US, Katsirin K. Analisis Data Penelitian Kuantitatif. *Jurnal Pelita Nusantara*. 2024;1(3):430-448. doi:10.59996/jurnalpelitanusantara.v1i3.350
85. Stefanson AL, Bakovic M. Dietary regulation of Keap1/Nrf2/ARE pathway: Focus on plant-derived compounds and trace minerals. *Nutrients*. 2014;6(9):3777-3801. doi:10.3390/nu6093777
86. Natasya F. Narrative Review: Potensi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Delima (*Punica Granatum L.*) Sebagai Anti-Hiperpigmentasi Kulit. Published online 2022. <https://etd.repository.ugm.ac.id/penelitian/detail/208125>
87. Suryadewi Soejanto A. Pemberian Krim Ekstrak Metanolik Buah Delima Merah (*Punica Granatum*) Menghambat Penurunan Jumlah Kolagen Dermis Kulit Mencit (*Mus Gusculus*) Yang Dipapar Sinar Ultraviolet B. *E-Jurnal Indonesian Journal of Anti Aging Medicine*. Vol

- 1.; 2017. <http://ijaam-unud.org>
88. Tossetta G, Fantone S, Marzioni D, Mazzucchelli R. Role of Natural and Synthetic Compounds in Modulating NRF2/KEAP1 Signaling Pathway in Prostate Cancer. *Cancers (Basel)*. 2023;15(11):1-22. doi:10.3390/cancers15113037
89. Kumar N, Kumar S. Functional Properties of Pomegranate (*Punica granatum* L.). *The Pharma Innovation Journal*. 2018;7(10):71-81. <http://www.thepharmajournal.com/archives/2018/vol7issue10/PartB/7-9-41-419.pdf>

