

**PENGARUH PEMBERIAN EMULGEL EKSTRAK
CALENDULA (*Calendula Officinalis. L*) TERHADAP
KADAR IL-6 dan EGF**

**(Studi Eksperimental Pada Model Tikus Wistar Jantan Yang
Diinduksi Paparan Sinar UV-B)**

TESIS

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



Magister Ilmu Biomedik

**Eka Puji Pratiwi
MBK. 24.23.010440**

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

2025

TESIS
PENGARUH PEMBERIAN EMULGEL EKSTRAK
CALENDULA
(*Calendula Officinalis. L*) TERHADAP KADAR IL-6 dan EGF
(Studi Eksperimental Pada Model Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi
Paparan Sinar UV-B)

Disusun oleh

Eka Puji Pratiwi

MBK. 24.23.010440

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji

Kamis, 28 Agustus 2025

dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II



Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes

Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan Sp.

D.V.E., Subsp.D.K.E, FINS DV, FAADV

NIK.210198046

NIK.8951110021

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung

Dr. dr. Eko Setiawan, SpB. FINACS

NIP.210.123.106

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Eka Puji Pratiwi

Tempat / Tanggal lahir : Palembang, 23 April 1996

Agama : Islam

Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK Aisyah 6 Palembang : Lulus tahun 2000
2. SD Muhammadiyah 06 Palembang : Lulus tahun 2006
3. SMPN 09 Palembang : Lulus tahun 2009
4. SMA Plus N 17 Palembang : Lulus tahun 2012
5. S1 Pendidikan Dokter Unmal Lampung : Lulus tahun 2021
6. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : (2024 – sekarang)

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Suami : dr. Rivan Wiriadibrata, M.K.M
2. Nama Anak : - Anabian Sayunala Wiriadibrata
- Al Umar Sayunala Wiriadibrata

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah puji syukur terpanjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia dan ridho-NYA, sehingga proposal tesis dengan judul **PENGARUH PEMBERIAN EMULGEL EKSTRAK CALENDULA (*Calendula Officinalis. L*) TERHADAP KADAR IL-6 dan EGF (Studi Eksperimental Pada Model Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi Paparan Sinar UV-B)** ini dapat penulis selesaikan.

Proposal Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Magister Biomedik di program studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan menghaturkan terima kasih yang sebesar-besarnya, kepada:

1. Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Prof. Dr. H. Gunarto, SH, MH.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak DR. dr. H. Setyo Trisnadi Sp.KF. SH.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr.dr. Eko Setiawan, Sp.B
4. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes atas bimbingan, arahan dan waktu yang telah diluangkan kepada penulis untuk berdiskusi selama menjadi dosen pembimbing pertama.
5. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan Sp. D.V.E., Subsp.D.K.E selaku dosen

pembimbing kedua yang memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.

6. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, yang telah memberikan arahan dan bimbingan untuk mendalami ilmu Biomedik.
7. Segenap staf administrasi program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
8. Terimakasih kuucapkan kepada suami, orang tua, mertua dan anak-anakku sebagai *support system* utama serta donatur utama dalam menyelesaikan tesis ini.
9. Kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Dengan keterbatasan pengalaman, ilmu maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan dan pengembangan lanjut agar benar benar bermanfaat. Oleh sebab itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar proposal tesis ini lebih sempurna serta sebagai masukan bagi penulis untuk penelitian dan penulisan karya ilmiah di masa yang akan datang.

Akhir kata, penulis berharap tesis ini memberikan manfaat bagi kita semua terutama untuk pengembangan ilmu pengetahuan yang ramah lingkungan.

Semarang, 18 Agustus 2025

Penulis

(Eka)

ABSTRAK

Latar Belakang: Paparan sinar UV-B menyebabkan kerusakan kulit seperti penuaan dini dan inflamasi akibat stres oksidatif. Terapi topikal berbahan alam, seperti *Calendula officinalis* L., berpotensi mengurangi inflamasi dan mempercepat regenerasi jaringan. Penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh pemberian emulgel ekstrak Calendula pada kadar IL-6 dan EGF pada tikus Wistar jantan yang diinduksi paparan sinar UV-B.

Metode: Penelitian ini menggunakan model eksperimen dengan desain *post-test only control group* menggunakan 24 ekor tikus Wistar jantan yang dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan emulgel ekstrak calendula 10%, dan 20%. Paparan UV-B diberikan selama 14 hari, diikuti aplikasi emulgel sekali sehari selama 14 hari. Sampel darah diambil pada hari ke-15 setelah perlakuan, kemudian kadar IL-6 dan EGF diukur menggunakan metode ELISA.

Hasil: Rerata kadar IL-6 tertinggi ditemukan pada Kelompok Emulgel Calendula 20%, yaitu $6,278 \pm 0,674$ ng/L. Rerata kadar EGF pada kelompok Emulgel Calendula 10% dan 20% berturut-turut adalah $285,590 \pm 37,986$ ng/L dan $346,078 \pm 38,559$ ng/L. Pemberian Emulgel Calendula 10% berpengaruh signifikan terhadap kadar EGF dibandingkan kontrol negatif ($p=0,025$), namun tidak berpengaruh terhadap kadar IL-6. Sedangkan, Emulgel Calendula 20% tidak berpengaruh signifikan terhadap kadar IL-6 maupun EGF dibandingkan dengan kontrol negatif.

Kesimpulan: Pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis* 10% berpengaruh terhadap kadar EGF pada kulit tikus Wistar jantan yang terpapar sinar UV-B, namun tidak memengaruhi kadar IL-6. Sementara itu, pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis* 20% tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap kadar IL-6 maupun EGF dibandingkan kontrol negatif.

Kata Kunci: Emulgel Calendula, IL-6, EGF, UV-B, inflamasi, regenerasi jaringan, tikus Wistar.

ABSTRACT

Background: UV-B exposure causes skin damage such as premature aging and inflammation due to oxidative stress. Topical natural therapies, such as *Calendula officinalis* L., have the potential to reduce inflammation and accelerate tissue regeneration. This study aims to evaluate the effects of Calendula emulgel on IL-6 and EGF levels in Wistar rat photodamage models.

Methods: This experimental study used a post-test only control group design with 24 male Wistar rats divided into 4 groups: negative control, positive control, emulgel Calendula extract 10%, and 20%. UV-B exposure was given for 14 days, followed by daily emulgel application for 14 days. Blood samples were collected on day 15, and IL-6 and EGF levels were measured using ELISA.

Results: The highest IL-6 level was found in the 20% Calendula emulgel group (6.278 ± 0.674 ng/L), significantly different from the Healthy group ($p = 0.016$). The 20% Calendula emulgel group also showed the most effective increase in EGF levels, 346.078 ± 38.559 ng/L, significantly different from the Healthy group ($p = 0.016$).

Conclusion: Application of 20% Calendula emulgel can trigger a stronger immune response, contributing to increased IL-6 production as part of the body's defense mechanism. Furthermore, it also increases EGF levels, stimulating a stronger regenerative and proliferative response in cells. This is related to the anti-inflammatory and immunomodulatory properties of Calendula, supporting tissue regeneration and accelerating wound healing.

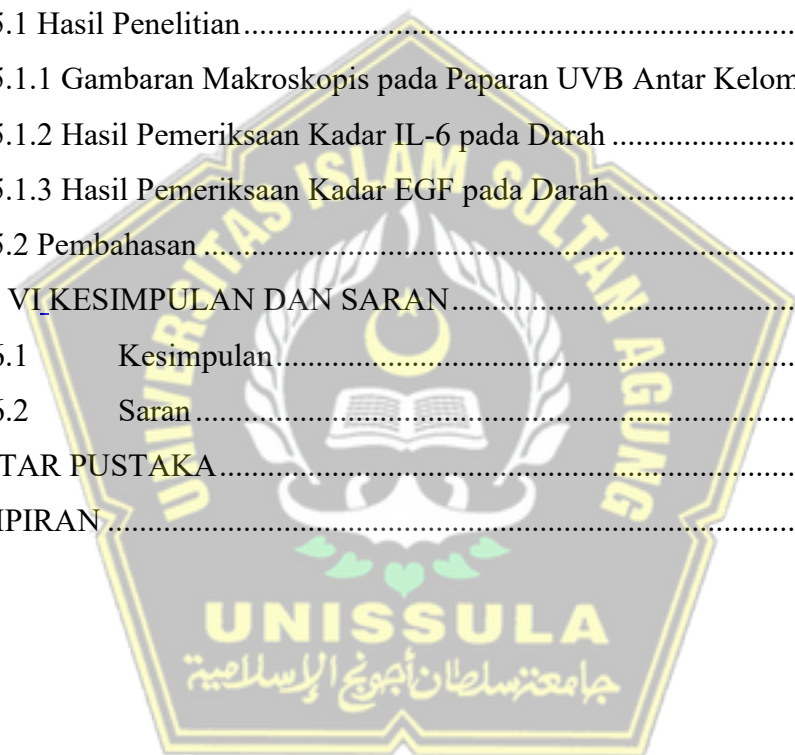
Keywords: Calendula emulgel, IL-6, EGF, UV-B, inflammation, tissue regeneration, Wistar rats.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
RIWAYAT HIDUP	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	1
BAB I PENDAHULUAN	2
1.1 Latar Belakang	2
1.2 Rumusan Masalah	4
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	5
1.5 Originalitas Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Interleukin-6 (IL-6)	9
2.1.1 Definisi <i>Interleukin-6</i>	9
2.1.2 Jalur Pensinyalan IL-6	11
2.1.3 Alat Ukur Interleukin-6	12
2.2 Epidermal Growth Factor (EGF)	13

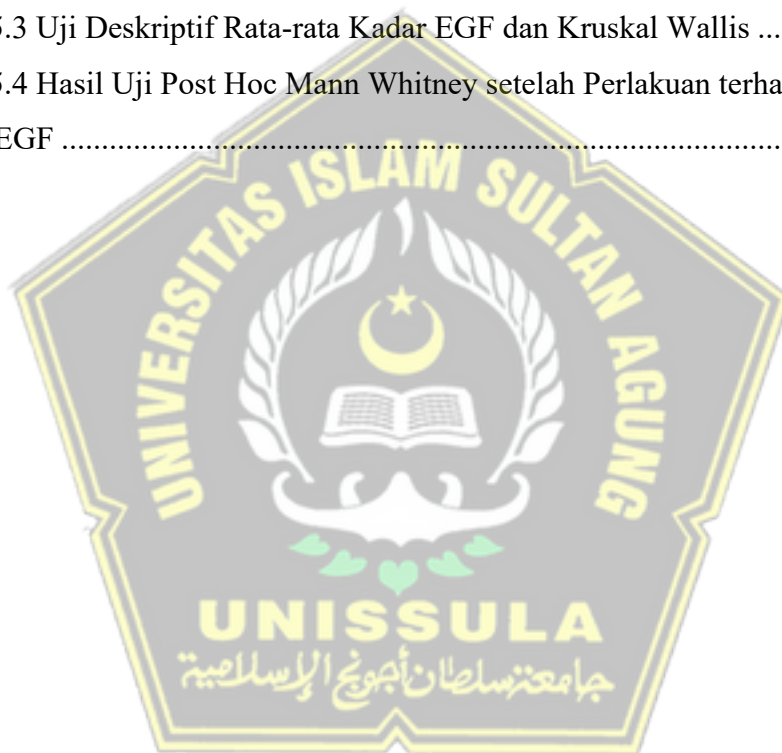
2.2.1 Definisi Epidermal Growth Factor (EGF).....	13
2.2.2 Jalur Pensinyalan EGF	14
2.2.3 Peran EGF dalam Regenerasi dan Penyembuhan Luka	15
2.3 Paparan Sinar UV.....	16
2.3.1 <i>Photodamaged</i> Kulit	17
2.3.2 Proses <i>Photodamaged</i> Radiasi UV dan Penetrasi Kulit.....	18
2.3.3 Dampak Sinar UV Pada Kulit	18
2.4 <i>Calendula Officinalis</i> . L.....	21
2.4.1 Senyawa Aktif Calendula	23
2.4.2 Efek Terapeutik Calendula pada Kulit	24
2.5 Biologi Tikus Wistar	25
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS.....	27
3.1 Kerangka Teori.....	27
3.2 Kerangka Konsep.....	29
3.3 Hipotesis Penelitian.....	29
BAB IV METODE PENELITIAN.....	30
4.1 Rancangan Penelitian.....	30
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	31
4.2.1 Populasi Penelitian.....	31
4.2.2 Sampel Penelitian	31
4.3 Variabel dan Definisi Operasional.....	33
4.3.1 Variabel Penelitian.....	33
4.3.2 Definisi Operasional	34
4.4 Alat dan Bahan	36
4.4.1 Alat	36
4.4.2 Bahan	37
4.6 Cara Penelitian.....	38
4.6.1 Permohonan Ethical Clearance.....	38
4.6.2 Subjek Penelitian	38
4.6.3 Pembuatan Ekstrak Bunga <i>Calendula Officinalis</i> . L.....	39
4.6.4 Persiapan Emulgel Ekstrak <i>Calendula officinalis</i> . L	40

4.6.5 Penentuan Dosis Ekstrak	40
4.6.6 Paparan Sinar UV	41
4.6.7 Pemberian Emulgel Calendula	41
4.6.8 Pengambilan Sampel dan Analisis	41
4.7 Alur Penelitian	43
4.8 Tempat dan Waktu Penelitian	44
4.9 Analisis Data	44
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	45
5.1 Hasil Penelitian	45
5.1.1 Gambaran Makroskopis pada Paparan UVB Antar Kelompok	46
5.1.2 Hasil Pemeriksaan Kadar IL-6 pada Darah	49
5.1.3 Hasil Pemeriksaan Kadar EGF pada Darah	52
5.2 Pembahasan	56
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	65
6.1 Kesimpulan	65
6.2 Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN	73



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Formula Emulgel Ekstrak Calendula ¹⁰	40
Tabel 4.2 Alur Penelitian	43
Tabel 5.1 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar IL-6 dan One Way ANOVA	49
Tabel 5.2 Hasil Uji Post Hoc Tukey HSD setelah Perlakuan terhadap Rata-rata Kadar IL-6	51
Tabel 5.3 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar EGF dan Kruskal Wallis	52
Tabel 5.4 Hasil Uji Post Hoc Mann Whitney setelah Perlakuan terhadap Rata-rata Kadar EGF	54



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1 Originalitas Penelitian.....	5
Gambar 2.1 Aktivitas Persinyalan IL-6 ¹⁸	12
Gambar 2.2 Jalur Pensinyalan EGF ¹⁹	14
Gambar 2.3 Klasifikasi UV berdasarkan WHO, 2002 ²¹	16
Gambar 2.4 Lapisan Epidermis dan Dermis pada Kulit ²⁷	19
Gambar 2.5 Bunga Calendula ³³	21
Gambar 2.6 Stuktur Calendula ⁶	23
Gambar 2.7 Aktivitas Farmakologi Calendula ³⁴	24
Gambar 3.1 Kerangka Teori.....	29
Gambar 3.2 Kerangka Konsep	29
Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian	30
Gambar 5.1 Tikus Sehat.....	536
Gambar 5.2 Kulit Punggung Tikus Setelah Paparan UVB pada Hari ke-1, 5, 7, 9, 11, 14. (K2) Tikus dengan paparan UVB + base emulgel; (K3) Tikus dengan paparan UVB + emulgel Calendula 10%; (K4) Tikus dengan paparan UVB + emulgel Calendula 10%	46
Gambar 5.3 Diagram Batang Kadar IL-6 Pada Tiap Kelompok.....	48
Gambar 5.4 Boxplot Distribusi Data Kadar IL-6 Antar Kelompok.....	48
Gambar 5.5 Diagram Batang Kadar EGF Pada Tiap Kelompok.	48

DAFTAR SINGKATAN



COA	: <i>Certificate of Analysis</i>
ECM	: <i>Extracellular Matrix</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
EGFR	: <i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
GSH	: <i>Glutathione</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
JAK	: <i>Janus Kinase</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MMP	: <i>Matrix Metalloproteinase</i>
MMP-1	: <i>Matrix Metalloproteinase-1</i>
MMP-9	: <i>Matrix Metalloproteinase-9</i>
MSDS	: <i>Material Safety Data Sheet</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor Kappa B</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>
PI3K	: <i>Phosphatidylinositol 3-Kinase</i>
RNS	: <i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	: <i>Superoxide Dismutase</i>
STAT	: <i>Signal Transducer and Activator of Transcription</i>
UV	: <i>Ultraviolet</i>
UV-B	: <i>Ultraviolet B</i>

DAFTAR LAMPIRAN

1. Ethical Clearance	73
2. Lampiran coA ekstrak calendula dari PT INBI	74
4. Dokumentasi Penelitian	76
5. Surat Hasil Pemeriksaan ELISA	78
6. Hasil SPSS	80



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Paparan sinar ultraviolet B (UV-B) telah terbukti sebagai penyebab utama kerusakan kulit kronis, mencakup penuaan dini, hiperpigmentasi, eritema, hingga kulit terbakar¹. Penyebab utama dari proses ini adalah peningkatan stres oksidatif dan peradangan yang terus-menerus yang disebabkan oleh sinar UV-B sehingga menghambat regenerasi jaringan dan memperlambat kerusakan matriks ekstraseluler. Paparan sinar UV-B mampu menembus epidermis dan memicu stres oksidatif, inflamasi, serta kerusakan pada matriks ekstraseluler, sehingga mengganggu integritas dan fungsi jaringan kulit. Akibatnya, proses penuaan kulit (*photoaging*) berlangsung lebih cepat, regenerasi jaringan terhambat, dan risiko timbulnya gangguan kulit kronis pun meningkat².

Permasalahan ini semakin meningkat seiring dengan melonjaknya prevalensi gangguan kulit akibat paparan sinar ultraviolet B (UV-B), dengan persentase sekitar 57,35% pada usia 18-21 tahun. Efek kumulatif paparan UV-B tidak hanya terbatas pada gangguan estetika seperti hiperpigmentasi dan keriput, tetapi juga memicu inflamasi kronis yang dapat berkembang menjadi lesi prakanker dan kerusakan DNA seluler³. Terapi topikal berbasis bahan alam saat ini memang banyak digunakan, namun sebagian besar masih mengandalkan konsentrasi ekstrak rendah dan belum diformulasikan secara optimal untuk menargetkan dua jalur biologis utama pada *photodamage*, yaitu peningkatan mediator inflamasi seperti *interleukin-6* (IL-6) dan gangguan

regenerasi jaringan akibat penurunan kadar *epidermal growth factor* (EGF)⁴. Kondisi ini menunjukkan perlunya formulasi yang tidak hanya aman digunakan secara topikal, tetapi juga dapat bekerja secara spesifik pada level molekuler untuk mengurangi peradangan dan mendorong proses regenerasi.

Paparan sinar UV-B menembus epidermis dan memicu stres oksidatif serta aktivasi jalur inflamasi. Produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) akibat UV-B menyebabkan kerusakan DNA dan lipid membran, memicu aktivasi faktor transkripsi seperti *Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* (NF- κ B) dan *Activator Protein-1* (AP-1). NF- κ B meningkatkan ekspresi sitokin proinflamasi termasuk IL-6, sedangkan AP-1 menurunkan sintesis kolagen dan merangsang ekspresi *Matrix Metalloproteinases* (MMPs). ROS juga menstimulasi reseptor permukaan sel seperti *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR), yang meningkatkan ekspresi EGF sebagai respons terhadap stres seluler. Akumulasi IL-6 dan EGF ini berperan penting dalam peradangan kronis dan remodeling kulit, sehingga mempercepat proses *photoaging*.^{5,6}

Calendula officinalis L. berpotensi sebagai agen fotoprotektif alami karena kandungan flavonoid, karotenoid, dan triterpenoid yang bersifat antiinflamasi dan merangsang regenerasi fibroblas.⁷ Meskipun dikenal mampu menenangkan kulit setelah paparan sinar matahari, sebagian besar studi masih menggunakan kadar ekstrak rendah dan belum mengevaluasi dampaknya terhadap IL-6 dan EGF pada model kulit terpapar UV-B. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan menilai efek emulgel *Calendula officinalis* L. berkonsentrasi tinggi (10% dan 20%) terhadap kadar IL-6 dan EGF pada tikus

Wistar model *photodamaged*, guna mengeksplorasi potensi optimalnya dalam mengurangi inflamasi dan mempercepat perbaikan jaringan kulit akibat paparan UV-B.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis. L* dapat mempengaruhi kadar IL-6 dan EGF pada kulit tikus Wistar jantan yang diinduksi paparan sinar UV-B?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menganalisis pengaruh pemberian emulgel ekstrak calendula (*Calendula officinalis. L*) terhadap kadar IL-6 dan EGF pada kulit tikus Wistar jantan yang diinduksi paparan sinar UV-B.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis pengaruh pemberian emulgel ekstrak calendula dengan konsentrasi 10% terhadap kadar IL-6 dan EGF pada kulit tikus Wistar jantan yang diinduksi dengan paparan sinar UV-B.
2. Menganalisis pengaruh pemberian emulgel ekstrak calendula dengan konsentrasi 20% terhadap kadar IL-6 dan EGF pada kulit tikus Wistar jantan yang diinduksi dengan paparan sinar UV-B.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Menambah pengetahuan di bidang biomedik terkait pengaruh ekstrak calendula terhadap kadar IL-6 dan EGF, sekaligus memperluas pemahaman tentang mekanisme kerjanya dalam memodulasi respons inflamasi dan proses penyembuhan kulit, khususnya pada *photodamaged* akibat paparan sinar UV-B.

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Emulgel ekstrak calendula dapat digunakan sebagai produk perawatan kulit yang efektif dalam meningkatkan regenerasi kulit dan mengatasi kerusakan akibat paparan sinar UV-B.
2. Dapat direkomendasikan sebagai terapi topikal untuk memperbaiki kulit yang terpapar sinar UV-B, membantu mempercepat proses penyembuhan dan mengurangi gejala kerusakan kulit seperti kemerahan dan iritasi.

1.5 Originalitas Penelitian

Gambar 1.1 Originalitas Penelitian

Peneliti	Judul Penelitian	Metode	Hasil
Auh & Madhavan (2021)	<i>Protective effect of a mixture of marigold and rosemary extracts on UV-induced photoaging in mice</i>	Uji in vivo dilakukan pada mencit jantan Swiss Albino yang dipapar UV untuk memicu photoaging, serta uji in vitro menggunakan sel HaCaT untuk analisis MMP-1 dan NF-κB p65	Pemberian oral ekstrak calendula dan rosemary menurunkan IL-6, meningkatkan <i>procollagen</i> dan antioksidan, serta memperbaiki struktur kulit, dengan dosis 133,6 mg/kg setara <i>hyaluronic acid</i> . ⁸
Nanda & Asutkar (2023)	<i>A Novel Formulation And Evaluation Of Wound Healing Cream Containing Calendula Extract Coated</i>	Uji in vivo pada tikus untuk menilai efektivitas krim ekstrak calendula dalam penyembuhan luka akibat paparan UV-B	Krim ekstrak calendula 20 µg/g menunjukkan penyembuhan luka 100% dan secara tidak langsung menurunkan kadar EGF dari kandungan flavonoid dan triterpenoid. ⁹

*On Silver Nano
Particles*

Ejiohuo <i>et al.</i> (2024)	<i>Calendula in modern medicine: Advancements in wound healing</i>	Kajian + uji in vivo (wound model) menggunakan gel calendula	Mendukung proliferasi fibroblas, mempercepat penyembuhan luka ⁷ .
Rohmani <i>et al.</i> (2024)	<i>Formulation and Activity of Sunscreen Cream from Ethanol Extract of Calendula Officinalis L. Flowers</i>	Uji in vitro dan in vivo pada tikus Wistar jantan menilai efektivitas ekstrak calendula yang dimaserasi pelarut etanol 70%, berdasarkan waktu munculnya eritema akibat UV-B	<i>Sunscreen</i> dengan ekstrak calendula 10% memberikan perlindungan optimal dan berperan dalam menghambat proses <i>photoaging</i> akibat paparan UV-B. ¹⁰
Jayapal <i>et al.</i> (2025)	<i>Formulation and Evaluation of Facial Serum Containing Marigold and Rose Petal Extracts for Skin Regeneration and Collagen Production</i>	Uji in vitro berbasis formulasi sediaan serum ekstrak calendula dan mawar, kemudian dilakukan evaluasi fitokimia	Serum wajah berbahan ekstrak marigold dan mawar menunjukkan potensi regeneratif dan stimulasi kolagen, dengan hasil uji pH, viskositas, stabilitas, dan mikrobiologi yang mendukung keamanan dan efektivitasnya sebagai produk anti-aging. ¹¹

Berdasarkan tabel 1.1 dalam studi Auh dan Madhavan (2021) secara eksperimental mengevaluasi aktivitas antiinflamasi akibat dari paparan UV-B yang menyebabkan *photoaging* dari kombinasi ekstrak bunga calendula dan rosemary secara oral. Studi ini menggunakan model mencit jantan swiss albino untuk menginduksi inflamasi dan mengukur respon imun, khususnya kadar IL-6. Penelitian yang akan dilakukan menggunakan sediaan emulgel, dengan ekstrak calendula 10% dan 20% secara in vivo pada tikus Wistar jantan dan mengukur kadar IL-6 dan EGF sebagai biomarker spesifik.⁸

Studi lain yang dilakukan Nanda dan Asutkar (2023) melakukan pengujian secara *in vivo* ekstrak calendula yang diformulasikan dengan sediaan krim berbasis nanopartikel. Penelitian yang dilakukan menggunakan ekstrak calendula 10% dan 20% yang diformulasikan dalam sediaan emulgel, dengan pengujian secara *in vivo* yang mengukur kadar biomarker spesifik IL-6 dan EGF.⁹

Studi selanjutnya yang dilakukan Ejiohuo et al. (2024) melakukan uji *in vitro* sediaan gel calendula pada luka akibat paparan UV-B. Penelitian yang akan dilakukan menggunakan sediaan emulgel yang di uji secara *in vivo* menggunakan model tikus Wistar jantan dan pengukuran kadar biomarker spesifik IL-6 dan EGF.⁷

Sedangkan, penelitian Rohmani *et al.* (2024) melaksanakan studi *in vitro* terhadap krim calendula 10% menunjukkan perlindungan maksimal terhadap paparan UV, sedangkan studi *in vivo*-nya memberikan perlindungan tambahan terhadap pembentukan eritema akibat UV-B. Penelitian yang akan dilakukan akan menggunakan sediaan emulgel calendula dengan konsentrasi 10% dan 20% secara *in vivo* pada tikus Wistar, dengan pengukuran biomarker spesifik TNF- α dan VEGF.¹⁰

Sementara itu, penelitian Jayapal *et al.* (2025) melakukan uji *in vitro* berbasis formulasi sediaan serum dengan kombinasi ekstrak calendula dan mawar, kemudian hanya sebatas dilakukan evaluasi fitokimia. Sedangkan, penelitian yang akan dilakukan menggunakan ekstrak calendula dalam bentuk sediaan emulgel secara *in vivo* dan menggunakan biomarker spesifik TNF- α

dan VEGF.¹¹

Dapat disimpulkan bahwa berbagai studi menunjukkan bahwa ekstrak calendula, baik tunggal maupun dikombinasikan, efektif menurunkan biomarker inflamasi akibat paparan UV-B. Penelitian sebelumnya menggunakan sediaan oral, krim, maupun gel, dengan model uji in vitro dan in vivo. Penelitian yang akan dilakukan akan menguji emulgel calendula 10% dan 20% secara in vivo pada tikus Wistar jantan dengan fokus pada biomarker spesifik IL-6, dan EGF untuk menilai efek antiinflamasi dan proteksi terhadap *photoaging*.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Interleukin-6 (IL-6)

2.1.1 Definisi *Interleukin-6*

Interleukin-6 (IL-6) merupakan salah satu sitokin proinflamasi yang berpotensi dijadikan indikator untuk menilai tingkat inflamasi pada sel endotel pembuluh darah. Sitokin ini beredar dalam bentuk glikosilasi multipel dengan ukuran yang bervariasi antara 21 hingga 28 kDa. Kadar IL-6 serum yang meningkat dapat menghambat produksi *nitric oxide* (NO) dengan cara mengurangi aktivitas endothelial *nitric oxide synthase* (eNOS). Kondisi ini dapat mempermudah pembentukan trombus, sehingga meningkatkan risiko terjadinya penyakit kardiovaskular. Peningkatan kadar penanda inflamasi juga berkaitan erat dengan disfungsi endotel dan dapat digunakan untuk mengidentifikasi pasien dengan kondisi yang lebih berat¹².

IL-6 adalah sitokin proinflamasi kuat yang diproduksi oleh berbagai jenis sel, termasuk makrofag teraktivasi, sel T, sel endotel, dan sel otot polos. Sitokin ini berperan dalam merangsang respons imun tubuh selama infeksi dan telah diidentifikasi sebagai penanda potensial yang terkait dengan kejadian penyakit kardiovaskular. Selain itu, IL-6 memengaruhi berbagai aktivitas seluler, termasuk efeknya pada trombosit, sel endotel, metabolisme, dan proses koagulasi. Interleukin-6 juga memiliki peran penting dalam mekanisme ruptur atau erosi plak

aterosklerotik, dengan kadar serum IL-6 yang cenderung meningkat selama proses tersebut¹².

Kenaikan kadar IL-6 ini berhubungan erat dengan terjadinya kerusakan jaringan dan inflamasi. Secara umum, IL-6 memiliki hubungan yang erat dengan IL-1 dan TNF- α , di mana ketiga sitokin ini sering dikeluarkan secara bersamaan oleh monosit aktif, terutama di area yang mengalami inflamasi. Oleh karena itu, IL-6, IL-1, dan TNF- α sering digolongkan sebagai sitokin proinflamasi (*proinflammatory cytokines*)¹².

Kadar normal IL-6 dalam serum adalah kurang dari 4 pg/ml. Apabila kadar IL-6 mencapai atau melebihi 4 pg/ml, hal ini mengindikasikan adanya peningkatan yang menunjukkan terjadinya proses inflamasi¹³. Peningkatan kadar IL-6 juga dapat memberikan dampak negatif, seperti memicu peningkatan suhu tubuh, dan pada kondisi kronis dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang diakibatkan oleh inflamasi¹⁴. Kadar IL-6 dalam serum cenderung meningkat seiring bertambahnya usia. Pada kelompok usia 65–74 tahun, kadar rata-rata IL-6 tercatat sebesar 1,4 pg/ml pada pria dan 1,1 pg/ml pada wanita. Sementara itu, pada usia di atas 85 tahun, kadar rata-rata IL-6 meningkat hingga 3,5 pg/ml pada pria dan 2,1 pg/ml pada wanita. Peningkatan kadar IL-6 yang berkaitan dengan proses penuaan tersebut disebabkan oleh stimulasi produksi IL-6 akibat bertambahnya jumlah radikal bebas oksigen.¹⁵

Mekanisme kerja molekuler sitokin *Interleukin-6* (IL-6) berfungsi

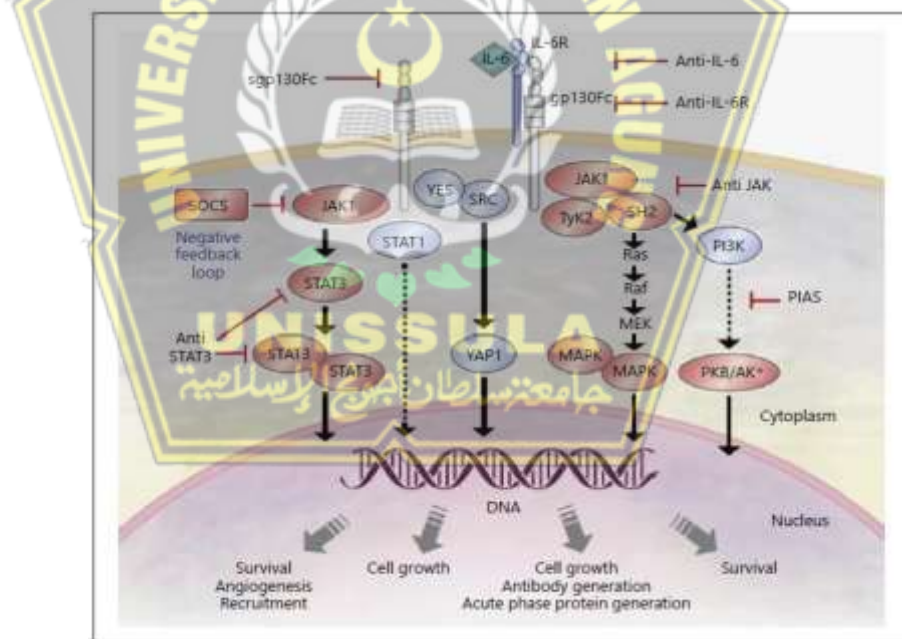
sebagai pro inflamasi dan anti inflamasi yang disekresikan oleh sel T dan makrofag. Sitokin IL-6 berperan dalam merangsang respons sistem imun terhadap mikroba, seperti *Mycobacterium leprae*, melalui *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) yang berikatan dengan *pattern recognition receptors* (PRRs) serta *Toll-like receptors* (TLRs)¹⁶. Sitokin IL-6 merangsang hepatosit untuk menghasilkan *acute phase protein* (APP) dan *cerebrospinal fluid* (CPS) yang kemudian menstimulasi progenitor di sumsum tulang agar memproduksi neutrofil. Selain itu, IL-6 juga menstimulasi pertumbuhan serta diferensiasi sel B menjadi sel mast yang berfungsi menghasilkan antibodi pada sistem imun spesifik. IL-6 juga berperan sebagai *growth factor* (GF) bagi sel plasma neoplastik (*myeloma*).

IL-6 memiliki dua molekul transmembran, yaitu *interleukin-6 receptor* (IL-6R) dan *signal transducing subunit*. Sitokin ini bersifat pleiotropik dengan peran sebagai agen proinflamasi maupun antiinflamasi yang berhubungan dengan IL-6R. Ekspresi IL-6 umumnya terjaga pada kadar rendah, kecuali saat terjadi infeksi atau trauma. Peran proinflamasi IL-6 tampak pada kondisi kronis, misalnya penyakit autoimun seperti lupus, kusta, dan *rheumatoid arthritis*. Peningkatan kadar IL-6 juga terjadi pada infeksi bakteri akut, peradangan kronis, serta bakteremia¹⁷.

2.1.2 Jalur Pensinyalan IL-6

Jalur pensinyalan IL-6 pada (Gambar 2.1) mengaktifkan tirosin kinase *Janus Kinase 1,2* (JAK1,2) dan *Tyrosine Kinase 2* (Tyk2). Ketika

JAK terikat pada sitoplasma gp130, ia akan memfosforilasi lima residu tirosin, yang kemudian mengaktifkan berbagai jalur sinyal intraseluler, seperti jalur *MAP kinase*, *PI3 kinase*, dan jalur transduser serta *aktivator transkripsi 3* (STAT3). Faktor transkripsi STAT3 direkrut dan diaktifkan melalui fosforilasi, sementara *aktivator transkripsi 1* (STAT1) juga sedikit teraktivasi. Fosforilasi ini memicu homodimerisasi STAT3 dan memindahkannya ke nukleus. Stimulasi jalur IL-6/JAK/STAT3 kemudian memediasi transkripsi gen-gen yang berperan dalam proliferasi, diferensiasi, rekrutmen, kelangsungan hidup, dan transformasi sel¹⁸.



Gambar 2.1 Aktivitas Persinyalan IL-6¹⁸

2.1.3 Alat Ukur Interleukin-6

Pengukuran kadar *interleukin-6* dapat menggunakan *enzyme linked immune sorbent assay* (ELISA) dengan kadar normal <11 pg/ml. Metode ELISA merupakan suatu teknik biokimia yang banyak digunakan

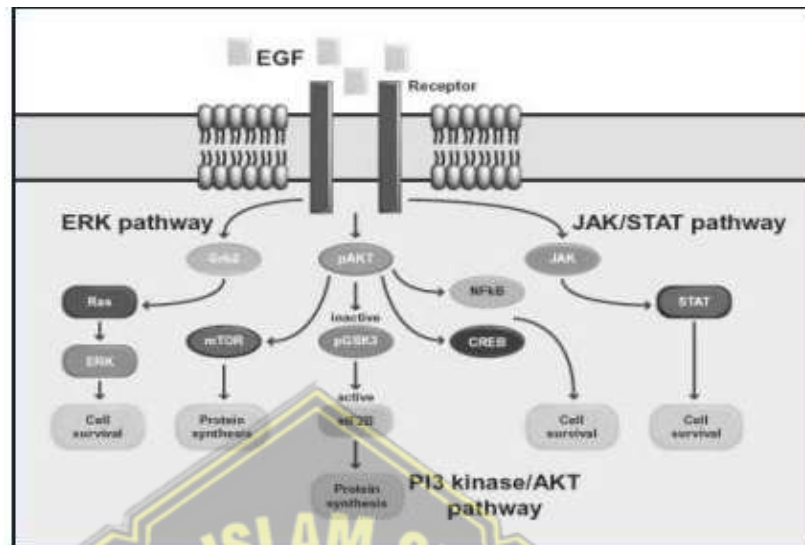
dibidang imunologi yang berfungsi untuk mendeteksi adanya antibodi atau antigen¹³.

2.2 Epidermal Growth Factor (EGF)

2.2.1 Definisi Epidermal Growth Factor (EGF)

Epidermal Growth Factor (EGF) adalah protein mitogenik yang merangsang proliferasi, diferensiasi, dan migrasi sel melalui pengikatan dengan *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR). EGF merupakan protein kecil dengan berat molekul sekitar 6 kDa yang terdiri dari 53 asam amino dengan tiga ikatan disulfida intramolekul yang menjaga stabilitas struktur molekulnya. *Epidermal Growth Factor* (EGF) berperan dalam proses regenerasi sel, penyembuhan luka, dan proliferasi sel pada berbagai jaringan, termasuk kulit, epitel, dan organ lainnya. EGF bekerja dengan berikatan pada EGFR di membran sel. Ikatan ini mengaktifkan reseptor tirosin kinase, yang memulai kaskade transduksi sinyal melalui jalur MAPK/ERK, PI3K/Akt, dan JNK. Aktivasi jalur ini memicu sintesis DNA, proliferasi sel, dan migrasi sel ke area luka¹⁹.

2.2.2 Jalur Pensinyalan EGF



Gambar 2.2 Jalur Pensinyalan EGF¹⁹

Epidermal Growth Factor (EGF) melalui reseptornya pada (Gambar 2.2) melibatkan tiga jalur utama, yaitu jalur ERK (*Extracellular Signal- Regulated Kinase*), PI3K/AKT (*Phosphoinositide 3-Kinase/AKT*), dan JAK/STAT (*Janus Kinase/Signal Transducer and Activator of Transcription*). Pada jalur ERK, pengikatan EGF ke reseptornya mengaktifkan protein adaptor seperti Grb2, yang kemudian menginisiasi aktivasi Ras dan kaskade ERK. Jalur ini mendukung kelangsungan hidup sel (*cell survival*) dan sintesis protein melalui aktivasi mTOR (*Mechanistic Target of Rapamycin*). Jalur PI3K/AKT dimulai dengan aktivasi PI3K, yang menghasilkan fosforilasi AKT (pAKT). AKT selanjutnya mengatur sintesis protein melalui aktivasi eIF2B dan mTOR, mendukung kelangsungan hidup sel, dan memengaruhi aktivitas *cAMP Response Element-Binding Protein* (CREB) serta NF-κB, yang berperan penting dalam respons seluler

terhadap stres dan inflamasi. Sementara itu, jalur JAK/STAT dimulai dengan aktivasi JAK oleh reseptor EGF, yang kemudian memfosforilasi STAT. STAT yang terfosforilasi akan masuk ke dalam inti sel untuk mengatur transkripsi gen yang mendukung kelangsungan hidup sel dan respons imun. Secara keseluruhan, gambar ini menunjukkan bagaimana sinyal dari EGF melalui reseptornya memengaruhi berbagai proses biologis, seperti sintesis protein, kelangsungan hidup sel, inflamasi, dan transkripsi gen melalui ketiga jalur pensinyalan tersebut¹⁹.

2.2.3 Peran EGF dalam Regenerasi dan Penyembuhan Luka

1. Stimulasi Proliferasi Sel

EGF berperan dalam meningkatkan pembelahan dan pertumbuhan sel epitel, fibroblas, dan keratinosit. Proses ini mendukung regenerasi jaringan setelah terjadi kerusakan, seperti pada luka dan *photodamaged*.

2. Re-Epitelialisasi

EGF mendorong migrasi keratinosit untuk menutup luka. Re-epitelialisasi yang cepat membantu mencegah infeksi dan mempercepat pembentukan kulit baru.

3. Angiogenesis

EGF berkontribusi pada pembentukan pembuluh darah baru, yang diperlukan untuk penyediaan oksigen dan nutrisi pada jaringan yang mengalami kerusakan. Sintesis *Matriks Ekstraseluler* (ECM) EGF merangsang produksi kolagen tipe I dan III serta elastin, yang

penting untuk kekuatan dan elastisitas kulit yang diperbaiki²⁰.

2.3 Paparan Sinar UV

Sinar ultraviolet (UV) adalah radiasi elektromagnetik yang berasal dari matahari dengan panjang gelombang lebih pendek dibandingkan cahaya tampak. Sinar ini dikelompokkan menjadi tiga kategori, diantaranya (Gambar 2.3):

1. Ultraviolet C (100-280 nm) yang sebagian besar dihambat oleh ozon, sehingga efek di kulit cukup kecil.
2. Ultraviolet B (280-315 nm) yang dapat menembus sampai lapisan epidermis dan bertanggung jawab atas terjadinya eritema akibat terbakarsinar matahari dan mutasi di keratinosit.
3. Ultraviolet A (315-400 nm), merupakan tipe yang bisa menembus ke bagian kulit bagian dalam lagi sampai ke dermis yang menyebabkan penuaan kulit serta mempengaruhi warna pigmentasi kulit dalam jangka waktu yang panjang⁸.



Gambar 2.3 Klasifikasi UV berdasarkan WHO, 2002²¹

Penelitian yang dilakukan oleh Respati et al. pada tahun 2022 dengan responden dari Indonesia, khususnya Jakarta, menunjukkan bahwa rata-rata indeks matahari adalah 6,22²². Menurut *World Health Organization* (WHO), *Ultraviolet Index* (UV-I) didefinisikan sebagai ukuran yang menggambarkan intensitas radiasi ultraviolet (UV) yang dapat menembus lapisan ozon dan memberikan efek pada tubuh, seperti menyebabkan *sunburn* (terbakar matahari) di lokasi dan waktu tertentu. UV-I ini berguna untuk menentukan tingkat kewaspadaan terhadap paparan sinar UV yang berpotensi merusak tubuh, dengan mempertimbangkan kondisi geografis di lokasi tertentu setiap harinya²¹.

2.3.1 *Photodamaged* Kulit

Photodamaged adalah kerusakan kumulatif pada kulit akibat paparan sinar UV yang berlebihan. Sinar UV, terutama UV-B dapat menyebabkan kerusakan langsung pada DNA dan protein kulit serta meningkatkan stres oksidatif. *Photodamaged* sering kali dikaitkan dengan penuaan dini, hilangnya elastisitas kulit, meningkatkan inflamasi, serta mengganggu proses regenerasi. Radiasi sinar UV mengaktifkan *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS), menyebabkan terjadinya mutasi genetik, mengubah basis gen, proses mutagenesis gen seperti transversi gen guanine menjadi gen timin sehingga merubah pasangan basa gen yang dapat mempengaruhi DNA. Faktor lain yang teraktivasi sinar UV seperti Nf-Kb yang meregulasi ekspresi *growth factor*, kemokin, sitokin

dan molekul adhesi²³

2.3.2 Proses *Photodamaged* Radiasi UV dan Penetrasi Kulit

Sinar UV-A dapat menembus lebih dalam ke dermis dan bertanggung jawab atas penuaan dini dan kerusakan jangka panjang seperti kerutan. UVA merusak serat kolagen dan elastin di dermis, menyebabkan hilangnya elastisitas kulit. Sedangkan, sinar UV-B Sebagian besar diserap oleh epidermis dan menyebabkan luka bakar akibat matahari. UVB memicu respons inflamasi yang meningkatkan produksi melanin, menyebabkan penggelapan kulit sebagai mekanisme perlindungan²⁴.

2.3.3 Dampak Sinar UV Pada Kulit

1. Kerusakan Struktur Kulit

Sinar UV dapat menembus lapisan epidermis dan dermis, menyebabkan kerusakan berikut:

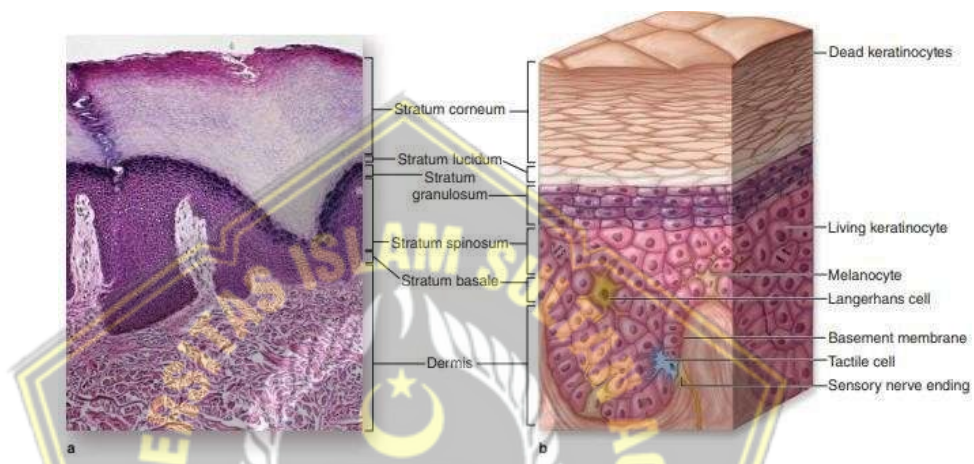
a. Epidermis

UVB sebagian besar diserap di epidermis dan menyebabkan kerusakan DNA. Paparan Sinar UV kemudian menginduksi pembentukan *cyclobutene pyrimidine dimers* (CPDs) yang mengganggu replikasi DNA, dan berkontribusi pada mutasi genetik. Selain itu juga menyebabkan disfungsi Sel Keratinosit keadaan dimana sel kurang mampu mempertahankan fungsi penghalang kulit (Gambar 2.4)²⁵.

b. Dermis

UVA menembus lebih dalam hingga dermis, merusak: Fibroblas

yang mengakibatkan menurunkan sintesis kolagen dan elastin, mengurangi elastisitas kulit (Gambar 2.4). Kemudian *Matriks Ekstraseluler* (ECM) yaitu Aktivasi enzim *metalloproteinase* (MMP) seperti MMP-1 dan MMP-9 yang menyebabkan degradasi kolagen dan elastin²⁶.



Gambar 2.4 Lapisan Epidermis dan Dermis pada Kulit²⁷

Sinar UV, terutama UVA, meningkatkan produksi spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species*, ROS), yang menyebabkan peroksidasi lipid membran sel, kerusakan protein dan DNA mitokondrial, serta penurunan mekanisme pertahanan antioksidan kulit, seperti enzim *superoksida dismutase* (SOD) dan *glutathione*²⁷.

2. Inflamasi dan Imunomodulasi

- a. Inflamasi akut: Dampak UVB memicu pelepasan mediator inflamasi seperti prostaglandin, histamin, dan sitokin pro-inflamasi (IL-1 β , TNF- α , dan IL-6), menyebabkan eritema (kemerahan) dan edema (pembengkakan).
- b. Imunosupresi: Paparan UV mengurangi aktivitas sel Langerhans,

yang melemahkan pertahanan imun kulit dan meningkatkan risiko infeksi serta kanker kulit²⁸.

3. Degradasi Kolagen dan Elastin

Aktivasi MMP-1 dan MMP-9 oleh UV-A dan UV-B menyebabkan degradasi serat kolagen dan elastin. Keadaan tersebut menghasilkan kulit yang lebih kendur, kehilangan elastisitas, dan timbulnya kerutan²⁹.

4. Gangguan Pigmentasi

a. Melanogenesis: UV-B merangsang produksi melanin untuk melindungi kulit dari radiasi, tetapi paparan kronis dapat menyebabkan pigmentasi tidak merata, seperti melasma dan bintik matahari (*solar lentigines*).

b. Kerusakan Melanosit: Paparan berlebihan dapat menyebabkan kerusakan melanosit, menghasilkan bercak hipopigmentasi atau depigmentasi³⁰.

5. Gangguan Angiogenesis

Paparan sinar UV dapat mempengaruhi VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*). Sinar UV merangsang produksi VEGF untuk memperbaiki kerusakan pembuluh darah, tetapi adanya paparan kronis pada kulit menyebabkan angiogenesis tidak teratur, sehingga meningkatkan risiko pembentukan tumor atau lesi vaskular³¹.

6. Penurunan Faktor Pertumbuhan

Paparan Sinar UV yang terjadi menghambat aktivitas EGF dan reseptornya (EGFR), memperlambat regenerasi keratinosit dan fibroblas, sehingga menghambat perbaikan epidermis dan dermis³².

7. Risiko Kanker Kulit

Kerusakan DNA akibat UV-B dapat menyebabkan mutasi genetik pada proto-onkogen atau gen penekan tumor seperti p53, yang meningkatkan risiko kanker kulit non-melanoma (seperti karsinoma sel basal dan karsinoma sel skuamosa) dan melanoma²⁸.

2.4 *Calendula Officinalis*. L

Calendula officinalis. L termasuk dalam famili *Asteraceae* merupakan tanaman obat yang terkenal. Tanaman ini dikenal dengan sebutan marigold yang menyebar di Eropa, Tiongkok, Amerika Serikat, dan India. Secara kimia *Calendula officinalis*. L memiliki berbagai kandungan aktif biologis seperti karotenoid, flavonoid, saponin, sterol, asamfenolik, lipid yang telah terbukti memiliki sifat anti-inflamasi, antioksidan, dan penyembuhan luka. Selain itu, penelitian juga menunjukkan bahwa calendula memiliki kemampuan untuk meningkatkan hidrasi kulit dan memperbaiki fungsi barrier kulit.



Gambar 2.5 Bunga Calendula³³

Klasifikasi Taksonomi Calendula :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: <i>Asteridae</i>
Ordo	: <i>Asterales</i>
Famili	: <i>Asteraceae</i>
Genus	: <i>Calendula</i>
Species	: <i>Calendula Officinalis</i>

Calendula officinalis. L merupakan herba tahunan aromatik berumur pendek, tumbuh hingga 80 cm (31 inci) tinggi, dengan batang longgar atau tegak yang jarang bercabang. Daunnya lonjong-lanset. Bunga cakram berbentuk tabung dan hermafrodit, dan umumnya berwarna jingga kemerahan yang lebih pekat, panjang 5–17 cm (2–7 inci), berbulu di kedua sisi, dan dengan tepi yang utuh atau kadang bergelombang atau bergigi lemah (Gambar 2.5).

Bunga tanaman ini berwarna kuning dan tersusun dalam kapitulium tebal atau kepala bunga berdiameter 4–7 cm yang dikelilingi dua baris braktea berbulu. Pada tanaman liar, bunga tersebut memiliki satu lingkaran bunga sinar yang mengelilingi bunga cakram di bagian pusat. Bunga sinar betina berwarna kuning, berbentuk tridentat, dan terletak di bagian tepi. Bunga dapat muncul sepanjang tahun apabila kondisi mendukung. Buahnya berupa achene melengkung yang berduri.²⁹

2.4.1 Senyawa Aktif Calendula

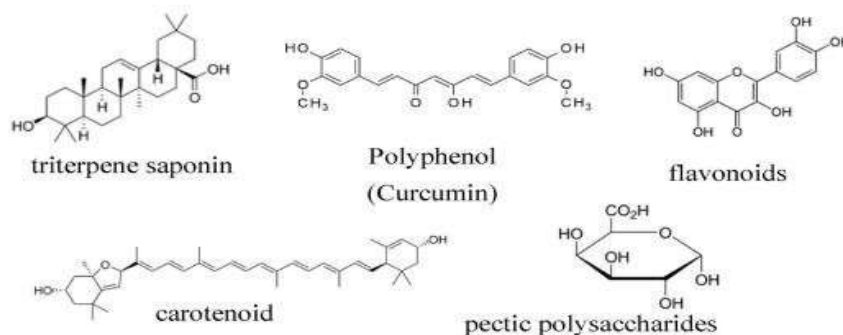
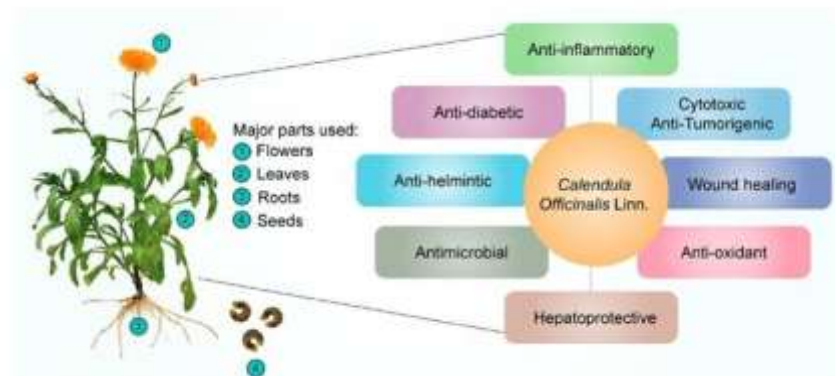


Fig. 1. Structure of key active compounds found in calendula.

Gambar 2.6 Struktur Calendula⁶

1. Triterpenoid merupakan kelompok alami utamanya (alkohol triterpen, dan saponin triterpen), polifenol (asam fenolik dan flavonoid), karotenoid, dan polisakarida merupakan senyawa aktif utama dalam *Calendula officinalis*. L digunakan sebagai Anti-inflamasi kuat, membantu meredakan peradangan pada kulit.
2. Polifenol atau senyawa fenolik merupakan senyawa yang sangat beragam dan terdapat secara alami di berbagai tanaman, termasuk calendula.
3. Asam fenolik dan flavonoid merupakan polifenol dan secara struktural mirip dengan cincin aromatik yang terikat pada setidaknya satu senyawa kompleks. Asam fenolik mengandung cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil yang terikat. Flavonoid memiliki tulang punggung flavon yang terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh jembatan tiga karbon.³⁰

2.4.2 Efek Terapeutik Calendula pada Kulit



Gambar 2.7 Aktivitas Farmakologi Calendula³⁴

Anti-inflamasi, senyawa dalam calendula menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang signifikan seperti pada (Gambar 2.7), menjadikannya efektif dalam mengurangi peradangan kulit, kemerahan, dan iritasi. calendula sering digunakan untuk menenangkan kulit yang meradang akibat dermatitis, eksim, dan ruam. Mekanisme Antiinflamasi:

- a. Flavonoid: Flavonoid dalam calendula memiliki efek menenangkan yang kuat pada jaringan kulit yang meradang dengan menghambat enzim yang memicu peradangan, seperti *siklooksigenase* (COX) dan *lipoksigenase* (LOX). Penurunan aktivitas enzim ini membantu mengurangi produksi mediator pro-inflamasi seperti prostaglandin.
- b. Triterpenoid: Komponen triterpenoid dari calendula memiliki efek antiedematous dan menghambat pelepasan histamin. Histamin adalah mediator inflamasi yang bertanggung jawab

atas pembengkakan dan rasa gatal yang sering terjadi pada kulit yang teriritasi.

- c. Karotenoid: Karotenoid tidak hanya memberikan warna kuning/oranye pada bunga tetapi juga berperan sebagai antioksidan yang melawan radikal bebas. Ini membantu mengurangi kerusakan oksidatif pada sel-sel kulit, yang dapat memperparah peradangan³⁵³⁶.

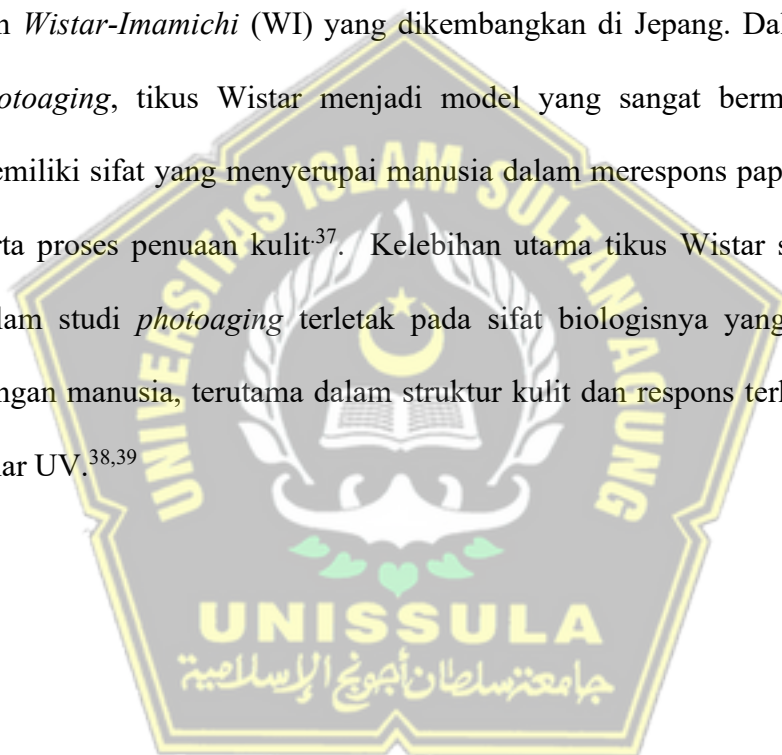
Ekstrak calendula juga dapat mempercepat penyembuhan luka dengan meningkatkan produksi kolagen dan mendukung pembentukan jaringan baru. Ini menjadikannya pilihan yang populer untuk perawatan luka dan iritasi ringan. Calendula dapat mempercepat proliferasi fibroblas, yaitu sel yang berperan dalam produksi kolagen sebagai komponen penting pembentukan jaringan baru selama proses penyembuhan luka. Kolagen berfungsi memberikan kekuatan dan struktur pada jaringan yang terbentuk³⁶.

2.5 Biologi Tikus Wistar

Tikus Wistar merupakan salah satu galur yang paling banyak digunakan dalam penelitian biomedis, termasuk pada studi mengenai *photoaging*. Galur ini pertama kali dikembangkan pada tahun 1906 oleh seorang fisiolog asal Inggris bernama Charles River dan dinamai berdasarkan Institut Wistar di Philadelphia, Amerika Serikat, yang pertama kali mendistribusikannya³⁷. Tikus Wistar merupakan hasil persilangan antara tikus albino galur Berlin dan strain albino yang dikembangkan di Pasteur Institute, Prancis. Sejak saat itu,

tikus Wistar menjadi salah satu model hewan yang paling banyak digunakan dalam penelitian biomedis karena ketersediaannya luas, biayanya relatif rendah, serta memiliki sifat biologis yang mendukung penelitian. Secara taksonomi, tikus Wistar termasuk dalam spesies *Rattus norvegicus*.³⁷

Galur tikus Wistar memiliki beberapa subgalur, namun yang paling sering digunakan dalam penelitian biomedis adalah subgalur *Wistar-Kyoto* (WKY) dan *Wistar-Imamichi* (WI) yang dikembangkan di Jepang. Dalam penelitian *photoaging*, tikus Wistar menjadi model yang sangat bermanfaat karena memiliki sifat yang menyerupai manusia dalam merespons paparan sinar UV serta proses penuaan kulit³⁷. Kelebihan utama tikus Wistar sebagai model dalam studi *photoaging* terletak pada sifat biologisnya yang cukup mirip dengan manusia, terutama dalam struktur kulit dan respons terhadap paparan sinar UV.^{38,39}



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori

Paparan sinar UV-B meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang menyebabkan stres oksidatif pada kulit. Stres ini memicu dua jalur utama. Pertama, ROS menginduksi ekspresi NF- κ B yang kemudian meningkatkan produksi sitokin pro-inflamasi, seperti IL-6. Sitokin ini memainkan peran penting dalam memulai fase inflamasi, yang ditandai dengan aktivasi makrofag tipe 1 (pro-inflamasi). Pada fase selanjutnya, makrofag tipe 1 bertransisi menjadi makrofag tipe 2 (anti-inflamasi) untuk mendukung proses perbaikan jaringan. Kedua, paparan sinar UV-B juga menyebabkan kerusakan DNA, yang berkontribusi pada disfungsi seluler dan penurunan kemampuan regenerasi kulit.

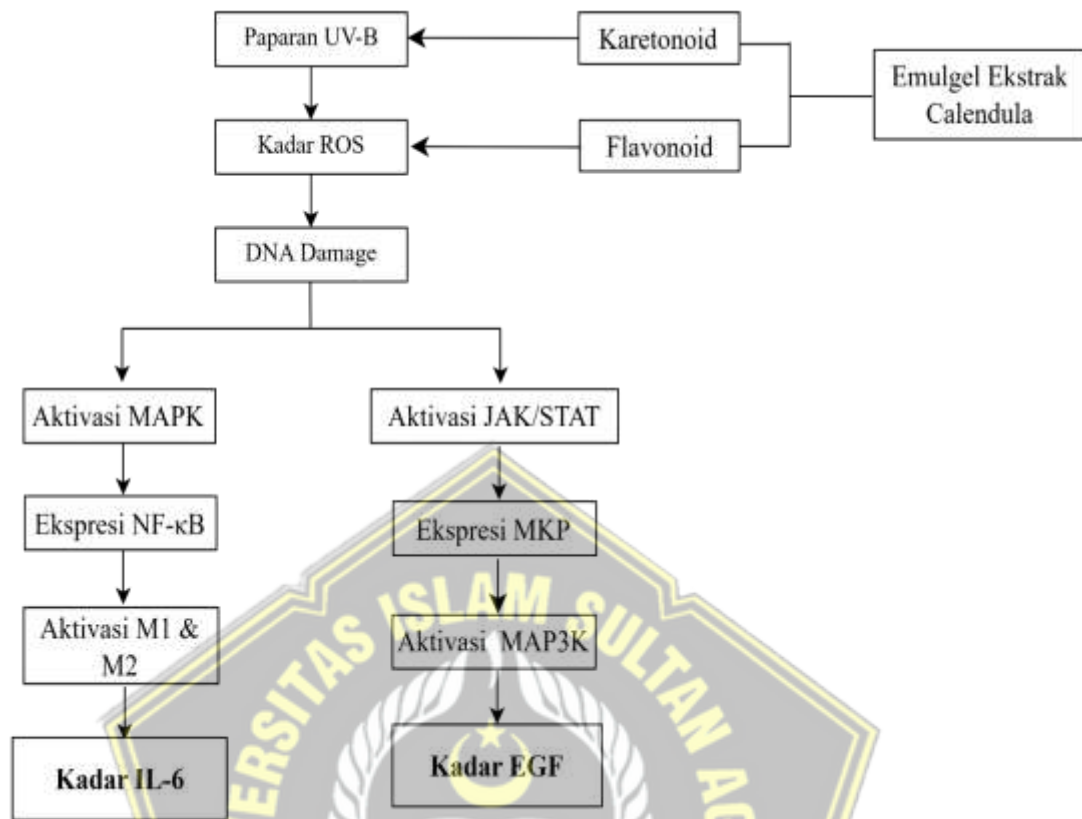
Dalam regenerasi jaringan, IL-6 yang dihasilkan selama fase inflamasi berperan dalam mendukung proliferasi dan maturasi sel. Proses ini dipercepat oleh peningkatan kadar *Epidermal Growth Factor* (EGF), yang merangsang pertumbuhan dan diferensiasi keratinosit serta fibroblas. Selain itu, paparan sinar UV-B juga mengakibatkan degradasi kolagen, yang berdampak pada penurunan kekuatan dan elastisitas kulit.

Pemberian emulgel berbasis ekstrak *Calendula officinalis*. L memberikan efek terapeutik yang signifikan untuk melawan kerusakan yang disebabkan oleh paparan UV-B. Ekstrak Calendula kaya akan senyawa bioaktif seperti flavonoid (quercetin dan kaempferol), karotenoid (lutein dan zeaxanthin) serta

saponin dan triterpenoid, yang memiliki efek antioksidan tinggi. Senyawa ini membantu menetralkan ROS, sehingga mengurangi stres oksidatif pada jaringan kulit. Dengan menurunnya stres oksidatif, ekspresi NF- κ B dan produksi sitokin pro-inflamasi juga dapat ditekan, yang berujung pada pengurangan tingkat peradangan.

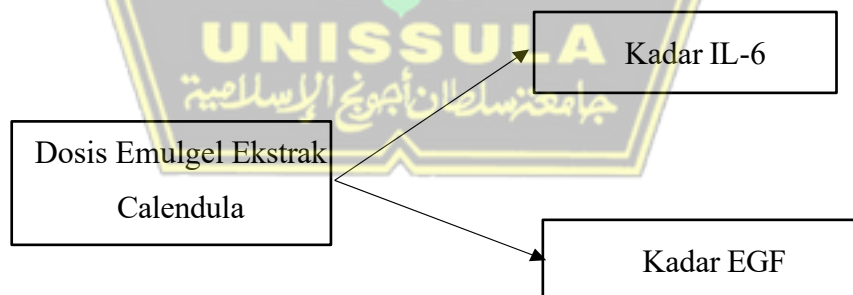
Selain efek anti-inflamasi, flavonoid dan karotenoid dalam calendula berperan dalam mendukung regenerasi kulit melalui pengaturan aktivitas *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR). Senyawa ini dapat menghambat aktivitas tirosin kinase yang berlebihan pada EGFR, sehingga menjaga keseimbangan proliferasi dan diferensiasi keratinosit. Mekanisme ini membantu mengontrol inflamasi lokal dan mendukung proses migrasi serta re-epitelialisasi.

Dengan kombinasi efek antioksidan, anti-inflamasi, dan regeneratif, emulgel berbasis ekstrak calendula efektif untuk mengurangi dampak kerusakan akibat paparan UV-B. Emulgel ini tidak hanya memperbaiki struktur dan fungsi kulit, tetapi juga membantu mencegah kerusakan lebih lanjut dengan melawan radikal bebas dan mendukung aktivitas molekul-molekul penting dalam proses penyembuhan kulit.



Gambar 3.1 Kerangka Teori

3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep

3.3 Hipotesis Penelitian

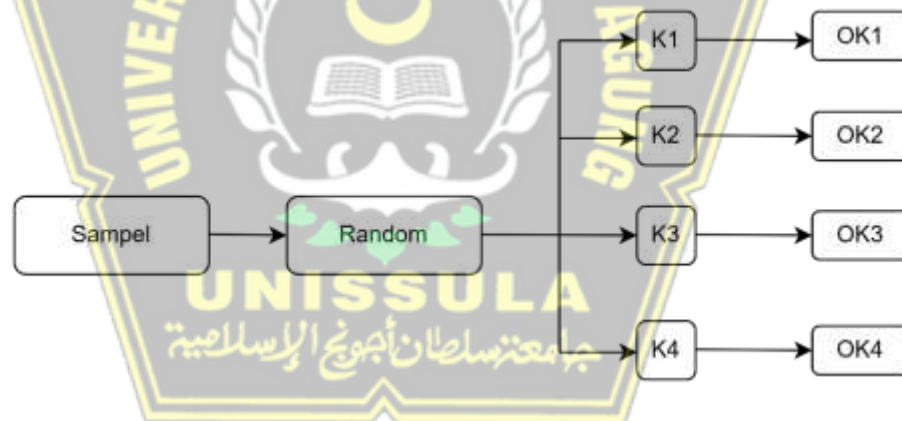
Terdapat pengaruh dalam pemberian emulgel ekstrak calendula (*Calendula officinalis. L*) terhadap kadar Il-6 dan EGF pada tikus Wistar jantan yang diinduksi paparan sinar UV-B.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain *post-test only control group design* pada model tikus Wistar jantan yang diinduksi paparan sinar UV-B secara *in vivo*. Model ini digunakan untuk menilai efek pemberian emulgel berbasis ekstrak *Calendula officinalis* *L* terhadap kadar IL-6 dan EGF. Tikus dibagi menjadi empat kelompok, yaitu dua kelompok kontrol (negatif dan positif) yang diberikan emulgel pembanding, dan dua kelompok perlakuan yang diberikan emulgel ekstrak calendula.



Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

1. K1: Tikus tidak di induksi UV-B dan diberikan pengolesan emulgel pembanding.
2. K2: Tikus di induksi UV-B, diberikan pengolesan emulgel pembanding.
3. K3: Tikus di induksi UV-B dan diberikan perlakuan dengan pengolesan

emulgel ekstrak calendula dengan konsentrasi 10%.

4. K4: Tikus di induksi UV-B dan diberikan perlakuan dengan pengolesan emulgel ekstrak calendula dengan konsentrasi 20%

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi target dalam penelitian ini Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*) yang dikembangkan dan dipelihara dari *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL), Fakultas Kedokteran Unissula. Tikus jantan galur Wistar yang digunakan sehat dengan berat badan 150–200 gram dan usia 8–10 minggu.

4.2.2 Sampel Penelitian

1. Kriteria inklusi:
 - a. Tikus sehat, aktif, dan tidak memiliki cacat fisik.
 - b. Tikus berusia 8-10 minggu.
 - c. Tikus dengan berat badan 150-200 g.
2. Kriteria eksklusi:
 - a. Tikus yang memiliki luka atau kerusakan kulit sebelum dilakukan perlakuan.
 - b. Tikus yang tidak mengalami kemerahan (eritema) setelah terpapar sinar UV-B.
3. Kriteria *drop out*:
 - a. Tikus mengalami kematian selama periode perlakuan.

Berdasarkan pedoman WHO, jumlah minimal sampel per kelompok

adalah 5 ekor, dengan tambahan 10% (1 ekor) sebagai cadangan untuk mengantisipasi kemungkinan kehilangan subjek (*loss to follow-up*). Pemilihan sampel dilakukan secara acak sederhana (*simple random sampling*) dan dibagi menjadi empat kelompok, yaitu satu kelompok sehat, satu kelompok kontrol, dan dua kelompok perlakuan. Penentuan jumlah sampel juga mengacu pada kriteria Federer, dengan jumlah minimal 6 ekor per kelompok, sesuai dengan rumus berikut:

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

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

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

$$3n-3 \geq 15$$

$$3n \geq 15+3$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Keterangan:

t = jumlah kelompok (4 kelompok).

r = jumlah pengulangan.

Jumlah tikus per kelompok ditetapkan 6 ekor, sehingga total tikus adalah 24 ekor. Jika terdapat 4 kelompok, maka jumlah minimal tikus yang dibutuhkan untuk percobaan yaitu sebanyak 28 ekor, dengan 1 tikus cadangan untuk masing-masing kelompok.

4.3 Variabel dan Definisi Operasional

4.3.1 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas (Independen) : Pemberian emulgel berbasis ekstrak calendula
2. Variabel Terikat (Dependen): Kadar IL-6 (*Interleukinin 6*) dan kadar EGF (*Epidermal Growth Factor*).
3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol adalah faktor-faktor yang dijaga tetap konstan untuk memastikan bahwa perubahan pada variabel terikat disebabkan oleh perlakuan pada variabel bebas. Variabel kontrol dalam penelitian ini meliputi:

- a. Durasi paparan UV: Semua tikus akan mendapatkan dosis UV yang sama (Intensitas radiasi yang digunakan adalah 400 mJ/cm^2 dengan durasi penyinaran setiap hari selama 14 hari).⁴⁰
 - b. Jenis kelamin dan galur tikus: Menggunakan tikus jantan galur Wistar yang memiliki karakteristik genetik yang seragam.
 - c. Kondisi lingkungan: Menjaga suhu, kelembapan, dan pencahayaan di ruang percobaan agar tetap stabil.
 - d. Makanan dan minuman: Semua tikus akan diberi pakan yang sama dan memiliki akses bebas terhadap air
4. Variabel Pengganggu (Kontaminasi)

Variabel ini dapat mempengaruhi hasil penelitian jika tidak dikendalikan, seperti:

- a. Faktor genetik tikus: Variasi dalam respons biologis antar individu tikus dapat mempengaruhi hasil penelitian.
- b. Kondisi kesehatan tikus: Tikus yang sakit atau stres dapat memberikan hasil yang bias. Oleh karena itu, hanya tikus yang sehat yang digunakan dalam penelitian.

4.3.2 Definisi Operasional

1. Aplikasi Emulgel Ekstrak *Calendula Officinalis*. L

Emulgel topikal yang digunakan dalam penelitian ini mengandung ekstrak kering *Calendula officinalis* L. dengan dua variasi konsentrasi, yaitu 10% dan 20%. Ekstrak tersebut diperoleh secara komersial dari PT INBI Nusantara Sejahtera, dengan metode ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak dilengkapi dengan dokumen *Certificate of Analysis* (COA) dan *Material Safety Data Sheet* (MSDS) untuk menjamin kualitas dan keamanan. Jenis bahan aktif yang digunakan adalah ekstrak etanol, bukan minyak atsiri, sehingga dipilih bentuk sediaan emulgel hidrofilik dengan basis yang diperoleh dari PT. Derma Elok Farma dan diformulasikan dengan ekstrak bunga calendula pada konsentrasi 10% dan 20%. Emulgel diaplikasikan satu kali sehari, dimulai satu jam setelah paparan, selama 14 hari berturut-turut. Dosis yang digunakan adalah 0,1 ml/cm² (1 g per-ekor), 1 jam setelah paparan UV.⁴¹

Satuan : mg (miligram)

Skala : Ordinal

2. Paparan Sinar UV-B

Paparan sinar UV-B yang digunakan menggunakan panjang gelombang sebesar 302 nm selama 14 hari. Intensitas radiasi yang digunakan adalah 400 mJ/cm² per hari pada jarak 8 cm, dengan durasi 12 menit per-sesi, dengan ukuran luka ± 3 cm, disesuaikan untuk menghasilkan kerusakan terkontrol pada lapisan epidermis dan dermis. Efek *photodamage* ditandai dengan penurunan kelembapan kulit, kerutan superfisial, inflamasi lokal, dan perubahan warna kulit. Evaluasi dilakukan berdasarkan observasi klinis dan analisis biomarker dari darah.

Satuan : mJ/cm² (Milijoule)

Skala : Ordinal

3. IL-6 (*Interleukin 6*)

Kadar IL-6 diukur menggunakan metode ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) dari sampel darah orbita tikus yang diambil setelah 14 hari perlakuan. Pengukuran IL-6 bertujuan untuk mengevaluasi derajat inflamasi sistemik yang diinduksi oleh UV dan efek dari perlakuan emulgel calendula.

Satuan : pg/mL (pikogram/mL)

Skala : Rasio

4. EGF (*Epidermal Growth Factor*)

Peningkatan kadar EGF menunjukkan respons biologis terhadap kerusakan jaringan akibat UV-B. Seperti IL-6, kadar EGF diukur dari orbita tikus menggunakan ELISA, pada hari ke-14 pasca perlakuan. Biomarker ini digunakan untuk menilai efektivitas emulgel ekstrak calendula dalam mendukung proses perbaikan jaringan kulit.

Satuan : pg/mL (pikogram/mL)

Skala : Rasio

4.4 Alat dan Bahan

4.4.1 Alat

1. Peralatan Pembiakan Tikus

Kandang tikus, kandang plastik, ventilasi, alas litter, dan tempat makan minum. Untuk memelihara tikus selama penelitian agar kondisi mereka tetap optimal dan tidak terkontaminasi

2. Alat Pengukur Paparan UV (UV Meter)

Untuk mengukur intensitas dan dosis sinar UV yang diterima oleh kulit tikus.

3. Alat *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) Reader

Untuk membaca absorbansi pada uji ELISA.

4. Pipet dan Mikropipet

Pipet otomatis dan mikropipet volume kecil untuk pengambilan sampel serum.

5. Termometer dan Alat Pengatur Suhu

Untuk memantau suhu ruangan dan suhu tubuh tikus.

6. Alat Cukur dan Gunting

Termasuk gunting, pinset, dan pisau bedah untuk prosedur pengambilan sampel.

4.4.2 Bahan

1. Hewan Uji

Tikus Jantan Wistar (*Rattus norvegicus*): berat 150–200 gram dan usia 8–10 minggu.

2. Ekstrak *Calendula officinalis* L.

Ekstrak kering yang diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol.

3. Emulgel Ekstrak Calendula

Emulgel topikal yang diformulasikan menggunakan ekstrak calendula yang dicampur dengan basis emulgel yang diperoleh dari PT Derma Elok Farma Industri Kosmetik.

4. Placebo

Emulgel dengan formulasi yang sama namun tanpa ekstrak calendula.

5. Alat penginduksi UV (UV Lamp)

Jenis: Lampu UV-B (280-315 nm) dengan dosis paparan yang dapat disesuaikan. Untuk menghasilkan paparan sinar UV pada kulit tikus guna menciptakan kondisi *photodamaged*.

6. Reagen Elisa

Kit ELISA untuk pengukuran IL-6 dan EGF dalam sampel darah

tikus.

7. Bahan Pendukung

- a. Ethanol: Untuk Menyiapkan ekstrak *Calendula officinalis. L*
- b. Agarose: Untuk pembuatan kultivasi atau untuk persiapan emulgel.
- c. Buffer fosfat (PBS): digunakan untuk persiapan larutan pengencer dan pencucian sampel.
- d. Makanan dan air

Jenis: pakan komersial standar untuk tikus dan air minum bebas kontaminasi

Fungsi: untuk menjaga kondisi fisik tikus selama penelitian

4.6 Cara Penelitian

4.6.1 Permohonan Ethical Clearance

Permohonan *ethical clearance* diajukan kepada Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang. Persetujuan ini *ethical clearance* menjadi syarat utama sebelum penelitian dilaksanakan.

4.6.2 Subjek Penelitian

1. Adaptasi : Tikus Wistar jantan yang sehat dan berusia 8-10 minggu dengan berat badan antara 150-200 gram. Tikus dipelihara dalam kandang yang bersih dengan suhu ruangan yang terkontrol, kelembapan 40-60%, dan pencahayaan 12 jam terang dan 12 jam gelap.
2. Perlakuan Pada Tikus

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen acak dengan 4 kelompok perlakuan:

- a. Kelompok I (Kontrol Negatif): Tikus yang tidak diberikan paparan sinar UV dan diberi emulgel pembanding. Kelompok ini berfungsi sebagai kontrol fisiologis untuk memberikan pembanding normal terhadap kelompok lain.
- b. Kelompok II (Kontrol Positif): Tikus yang diberi paparan sinar UV dan diberi emulgel pembanding yang sudah diketahui memiliki efek penyembuhan atau perlindungan terhadap paparan UV.
- c. Kelompok III (Emulgel Calendula Dosis Sedang): Tikus yang diberi paparan sinar UV dan diberi perlakuan emulgel berbasis ekstrak calendula dengan dosis sedang (10%).
- d. Kelompok IV (Emulgel Calendula Dosis Tinggi): Tikus yang diberi paparan sinar UV dan diberi perlakuan emulgel berbasis ekstrak calendula dengan dosis tinggi (20%).

4.6.3 Pembuatan Ekstrak Bunga Calendula Officinalis. L

Dalam penelitian ini, bunga *Calendula officinalis. L* tidak melalui proses pengeringan dan ekstraksi secara mandiri. Sebagai gantinya, digunakan ekstrak *Calendula officinalis. L* siap pakai yang diperoleh dari PT INBI Nusantara Sejahtera. Ekstrak ini dipilih karena telah melalui proses ekstraksi standar industri menggunakan pelarut yang sesuai (seperti etanol 70%) dan rasio yang telah teruji, sehingga memastikan kandungan bahan aktif tetap optimal.

Selain itu, ekstrak yang digunakan dilengkapi dengan dokumen MSDS (*Material Safety Data Sheet*) dan COA (*Certificate of Analysis*), sebagai bukti kualitas, keamanan, dan konsistensi produk untuk digunakan dalam sediaan kosmetik penelitian ini.

4.6.4 Persiapan Emulgel Ekstrak *Calendula officinalis*. L

Emulgel dalam penelitian ini tidak diformulasikan secara mandiri di laboratorium, melainkan menggunakan base sediaan emulgel yang diperoleh dari PT Derma Elok Farma Industri Kosmetik. Base ini telah diformulasikan dengan bahan pembawa seperti karbomer, gliserin, dan propilen glikol, yang umum digunakan dalam sediaan kosmetik untuk menjamin stabilitas, keamanan, dan kenyamanan penggunaan. Pemilihan base dari sumber industri bertujuan untuk mendapatkan hasil formulasi yang lebih konsisten, aman, dan sesuai dengan standar kosmetik.

Tabel 4.1 Formula Emulgel Ekstrak *Calendula*¹⁰

Bahan	F1	F2
Basis emulgel diperoleh <i>Raw</i> Ad 100% <i>Material Cosmetical</i> ad 100%. Tiap formula sediaan emulgel dibuat dalam 500 g	(450 g)	(400 g)
Ekstrak <i>Calendula</i> (g)	10% (50 g)	20% (100 g)

4.6.5 Penentuan Dosis Ekstrak

Penentuan dosis topikal ekstrak *Calendula* dilakukan berdasarkan telaah pustaka dari penelitian-penelitian sebelumnya.

Studi terdahulu menunjukkan bahwa penggunaan topikal ekstrak *Calendula officinalis* L. dengan konsentrasi 10% memberikan efek yang stabil dalam mengurangi gejala *photoaging* akibat paparan sinar UV. Berdasarkan temuan tersebut, penelitian ini juga menambahkan konsentrasi yang lebih tinggi, yaitu 20%, untuk mengevaluasi perbedaan efektivitasnya terhadap kulit tikus. Oleh karena itu, konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10% dan 20% dalam bentuk sediaan topikal.¹⁰

4.6.6 Paparan Sinar UV

Tikus akan dipaparkan dengan sinar UV-B (302 nm) menggunakan lampu UV yang telah dikalibrasi. Intensitas radiasi yang digunakan adalah 400 mJ/cm² dengan durasi penyinaran setiap hari selama 14 hari. Setiap sesi penyinaran berlangsung selama 12 menit per-hari untuk menciptakan *photodamaged* pada kulit tikus.⁴⁰

4.6.7 Pemberian Emulgel Calendula

Emulgel dioleskan pada area punggung tikus yang terpapar UVB sebanyak satu kali sehari (1 jam setelah paparan), setiap kali dengan dosis 0,1 mL/cm² (1g per-ekor), selama 14 hari.⁴¹ Emulgel diaplikasikan dengan menggunakan spatula bersih, dan area kulit yang telah dirawat akan dipantau setiap hari untuk menilai tanda-tanda pemulihan kulit.

4.6.8 Pengambilan Sampel dan Analisis

1. Pengambilan Sampel Darah

Setelah 14 hari perlakuan, analisis dilakukan setelah tikus didiamkan

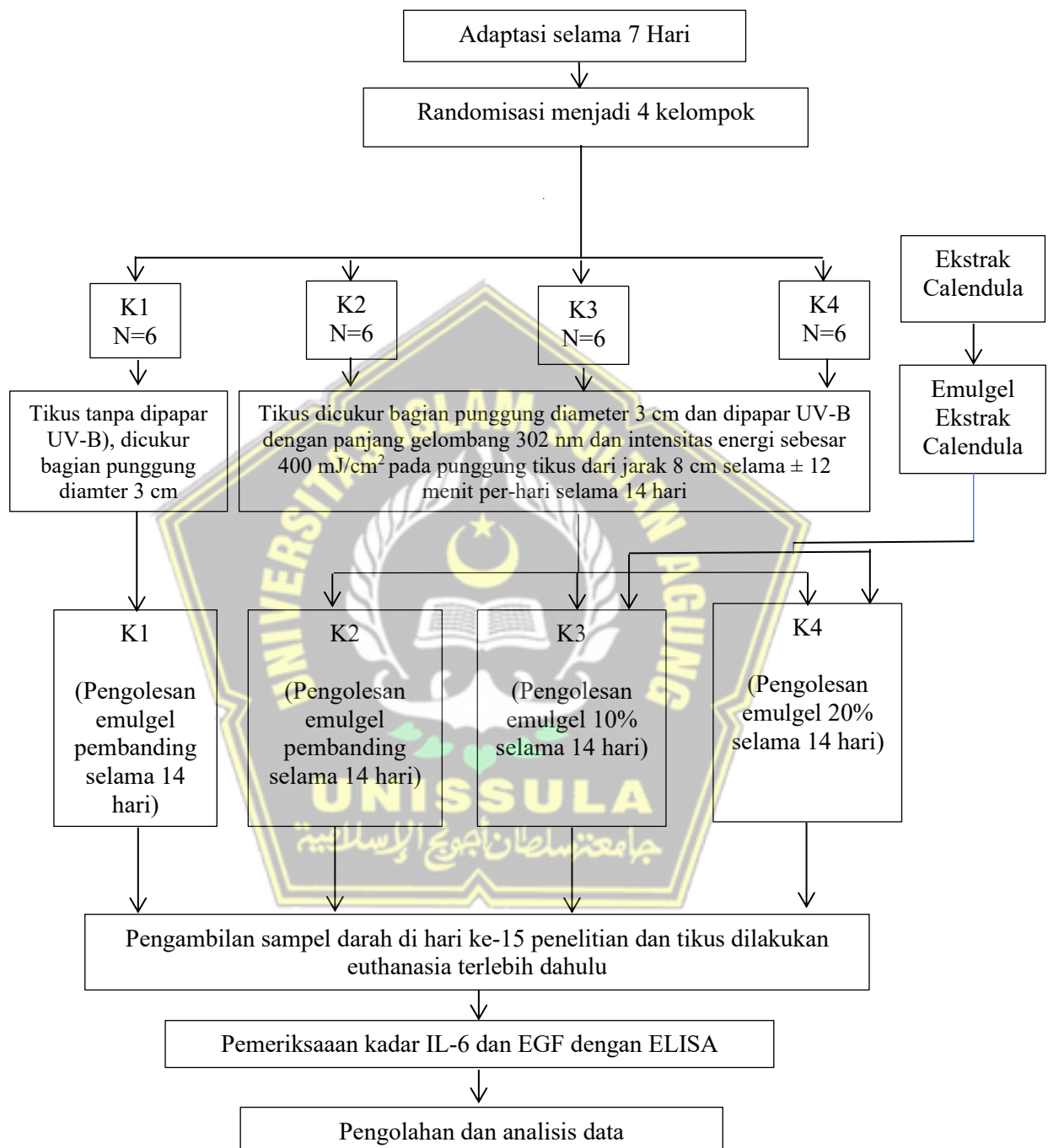
selama 24 jam, kemudian di euthanasia dengan xylazin 20 mg/kgBB dan ketamin dengan dosis 60 mg/kgBB secara IM. Sampel darah pada orbita tikus diambil sebanyak 0,5 cc yang telah terpapar UVB dan diberi perlakuan emulgel. Darah yang diperoleh akan digunakan untuk analisis biomarker menggunakan metode ELISA.⁴²

2. Pengukuran IL-6 dan EGF dengan ELISA

Sampel darah dianalisis menggunakan kit ELISA untuk mengukur kadar IL-6 dan EGF. ELISA dilakukan sesuai dengan petunjuk kit ELISA yang digunakan untuk memastikan tingkat akurasi dan keandalan hasil pengukuran.



4.7 Alur Penelitian



Tabel 4.2 Alur Penelitian

4.8 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini menggunakan ekstrak *Calendula* yang diperoleh dari bahan baku komersial milik PT INBI Nusantara Sejahtera. Formulasi sediaan emulgel dilakukan di laboratorium PT Derma Elok Farma. Penelitian dan perlakuan terhadap hewan uji dilaksanakan di fasilitas hewan *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL), Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Analisis sampel dilakukan di Laboratorium CITO, Semarang. Kegiatan penelitian direncanakan berlangsung pada bulan Juli-Agustus 2025.

4.9 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan tahapan awal menggunakan uji deskriptif, dilanjutkan dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas varian melalui uji *Levene*. Data yang menunjukkan distribusi normal dan varian yang homogen ($p > 0,05$), maka analisis dilanjutkan menggunakan uji parametrik *One Way ANOVA* untuk menilai perbedaan antar kelompok perlakuan, yang kemudian diikuti oleh uji lanjutan *Post Hoc Tukey* guna mengidentifikasi kelompok dengan perbedaan signifikan. Data yang berdistribusi normal tetapi tidak homogen, tetap digunakan uji *One Way ANOVA* dengan uji lanjutan *Post Hoc Tamhane*. Namun, data yang tidak berdistribusi normal dan varian tidak homogen, maka digunakan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis*, yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* sebagai analisis post hoc. Penentuan diterima atau ditolak hipotesis didasarkan pada nilai signifikansi 5% ($p < 0,05$). Seluruh proses analisis data dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS versi 26.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Analisis kadar IL-6 dan EGF pada tikus Wistar jantan yang diinduksi paparan sinar UV-B dilakukan untuk mengevaluasi efek pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis* L. secara *in vivo*. Penelitian ini berlangsung pada periode Mei hingga Agustus 2025 dan dilaksanakan di empat lokasi, yaitu PT INBI Nusantara Sejahtera sebagai penyedia bahan baku ekstrak Calendula, laboratorium PT Derma Elok Farma untuk formulasi sediaan emulgel, *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang untuk tempat penelitian uji coba hewan, serta Laboratorium CITO sebagai tempat pengujian sampel.

Sebanyak 24 ekor tikus jantan galur Wistar (berumur 8–10 minggu dengan berat badan 150–200 gram) digunakan sebagai hewan uji. Tikus-tikus tersebut dibagi ke dalam empat kelompok perlakuan, masing-masing terdiri atas 6 ekor. Kelompok penelitian terdiri dari:

- K1: kelompok kontrol negatif (tanpa paparan UV-B + emulgel pembanding)
- K2: kelompok kontrol positif (paparan UV-B + emulgel pembanding)
- K3: kelompok perlakuan 1 (paparan UV-B + emulgel ekstrak calendula 10%)
- K4: kelompok perlakuan 2 (paparan UV-B + emulgel ekstrak calendula 20%)

Pengambilan sampel darah dilakukan pada hari ke-15 setelah pemberian

perlakuan. Sampel darah yang diperoleh akan dianalisis untuk mengukur kadar IL-6 dan EGF menggunakan metode untuk menentukan konsentrasi masing-masing biomarker.

5.1.1 Gambaran Makroskopis pada Paparan UVB Antar Kelompok

Pengamatan makroskopis dilakukan untuk menilai kondisi kulit tikus pada masing-masing kelompok setelah terpapar sinar UV-B dan diberi perlakuan. Tujuan dari pemeriksaan ini adalah untuk memastikan bahwa prosedur paparan UV-B dan aplikasi emulgel *Calendula* dilakukan secara konsisten pada seluruh hewan uji, sehingga respons kulit terhadap perlakuan dapat diamati dengan cara yang seragam di setiap kelompok. Pengukuran dilakukan setiap hari dari hari ke-0 (H0) hingga hari ke-14 (H14). Kelompok K1, sebagai kontrol sehat, tidak mendapat perlakuan paparan UV-B atau emulgel *Calendula*, sehingga tidak ada perubahan yang tercatat pada kondisi kulitnya dan hanya digunakan sebagai pembandingan normal dengan kelompok perlakuan lainnya.



Gambar 5.1 Tikus Sehat

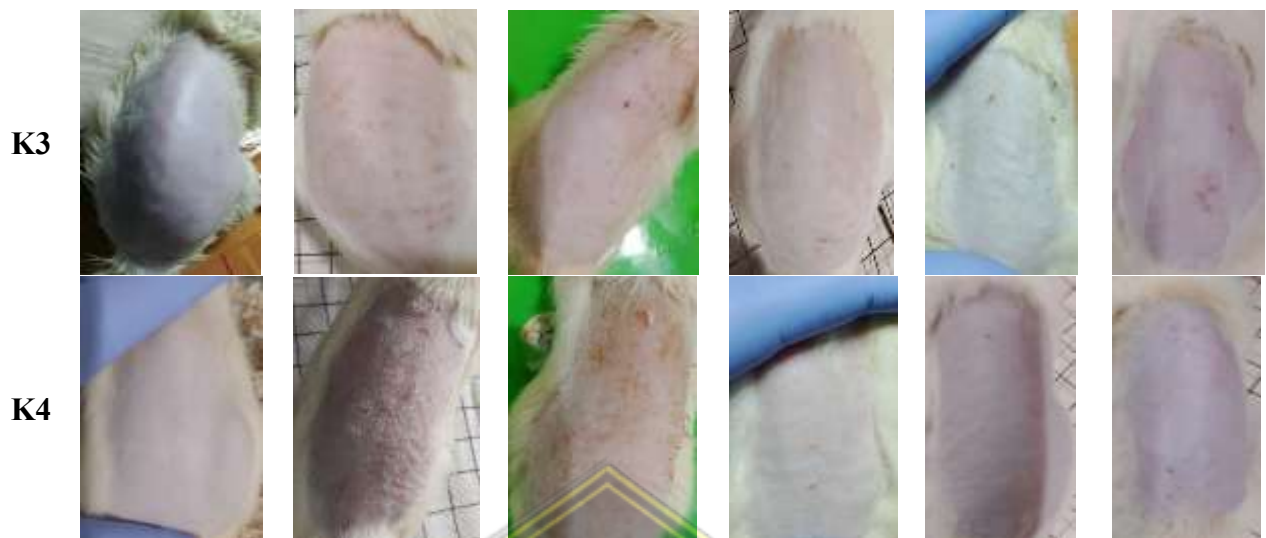
Pada Gambar 5.1, terlihat kondisi kulit tikus dari kelompok Tikus Sehat (K1) yang tidak terpapar sinar UV-B. Kulit tikus tersebut tampak

normal, halus, dan tidak menunjukkan adanya kerusakan atau peradangan. Ini menandakan bahwa pada kelompok Tikus Sehat, tidak terjadi perubahan atau kerusakan kulit akibat faktor eksternal seperti paparan sinar UV-B.

Gambar 5.2 menunjukkan kondisi kulit tikus pada kelompok yang terpapar sinar UV-B dan diberikan perlakuan pada hari ke-1, 5, 7, 9, 11, dan 14. Pengamatan dilakukan pada tiga kelompok perlakuan berbeda, yaitu K2, K3, dan K4, untuk melihat dampak dari paparan UV-B serta pemberian perlakuan Emulgel Calendula.

Pada kelompok K2, yang hanya diberikan UV-B dengan base emulgel, terlihat kerusakan kulit yang jelas setelah paparan UV-B. Pada hari pertama, kulit tikus mulai menunjukkan kemerahan dan iritasi. Pada hari-hari berikutnya, kerusakan kulit semakin parah dengan munculnya luka bakar ringan dan penebalan kulit, yang mengindikasikan bahwa paparan UV-B tanpa perlakuan dapat menyebabkan peradangan dan kerusakan pada kulit tikus.





Gambar 5.2 Kulit Punggung Tikus Setelah Paparan UVB pada Hari ke-1, 5, 7, 9, 11, 14. (K2) Tikus dengan paparan UVB + base emulgel; (K3) Tikus dengan paparan UVB + emulgel Calendula 10%; (K4) Tikus dengan paparan UVB + emulgel Calendula 10%.

Kelompok K3, yang diberi Emulgel Calendula 10%, menunjukkan kondisi kulit yang lebih baik setelah paparan UV-B dibandingkan dengan K2. Meskipun pada hari pertama kulit tikus sedikit memerah, seiring berjalannya waktu, kondisi kulit kelompok K3 menunjukkan tanda-tanda penyembuhan dengan kerusakan yang lebih minimal dibandingkan kelompok K2 yang hanya diberi base emulgel. Sifat antiinflamasi dan penyembuhan luka dari Emulgel Calendula pada kelompok ini dapat membantu mempercepat proses penyembuhan kulit yang rusak akibat UV-B.

Kelompok K4, yang diberi Emulgel Calendula 20%, menunjukkan hasil yang lebih buruk dibandingkan K3, namun tetap lebih baik dibandingkan K2. Pada awalnya, kulit tikus pada kelompok K4 menunjukkan perburukan yang lebih signifikan, disebabkan oleh efek lebih kuat dari Calendula 20% yang merangsang respons imun atau

inflamasi yang lebih intens. Meskipun begitu, setelah beberapa waktu, kelompok K4 menunjukkan perbaikan dan regenerasi kulit yang lebih baik dibandingkan K2, meskipun kulitnya masih tampak lebih kemerahan dibandingkan dengan K3.

Secara keseluruhan, meskipun kelompok K4 dengan dosis Calendula 20% mengalami kerusakan kulit yang lebih parah pada awalnya, kelompok ini menunjukkan perbaikan yang lebih baik dibandingkan kelompok yang hanya diberi base emulgel (K2). Namun, dosis Calendula 10% pada kelompok K3 menunjukkan pemulihan yang lebih cepat setelah paparan UV-B. Penurunan kerusakan kulit di kelompok K3 menunjukkan bahwa dosis Calendula yang lebih rendah memberikan efek yang lebih seimbang dalam merangsang penyembuhan tanpa menimbulkan reaksi inflamasi yang berlebihan.

5.1.2 Hasil Pemeriksaan Kadar IL-6 pada Darah

Hasil analisis rerata kadar IL-6 pada tiap kelompok hari ke-15 setelah perlakuan ditunjukkan pada tabel 5.1 sebagai berikut:

Tabel 5.1 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar IL-6 dan One Way ANOVA

Kelompok	Tikus Sehat (K1)	Kontrol Negatif (K2)	Emulgel Calendula 10% (K3)	Emulgel Calendula 20% (K4)	<i>P value</i>
Kadar IL-6 ng/L					
Mean	5,153	5,573	5,385	6,278	
SD	0,521	0,508	0,621	0,674	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,729	0,228	0,450	0,282	
<i>Levene Test</i>					0,214
<i>One Way ANOVA</i>					<0,001

Keterangan:

Shapiro-Wilk = Data berdistribusi normal ($p > 0,05$)

Levene Test = Data homogen ($p > 0,05$)

One Way ANOVA = Terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil analisis pada Tabel 5.1, kadar IL-6 rata-rata pada kelompok Tikus Sehat (K1) adalah $5,153 \pm 0,521$ ng/L, sedangkan pada kelompok Kontrol Negatif (K2) meningkat menjadi $5,573 \pm 0,508$ ng/L. Peningkatan ini menunjukkan bahwa paparan atau perlakuan tertentu pada kelompok kontrol dapat merangsang peningkatan kadar IL-6 dibandingkan dengan kondisi normal. Pada kelompok perlakuan dengan Emulgel Calendula 10% (K3), kadar IL-6 tercatat sebesar $5,385 \pm 0,621$ ng/L, sementara pada kelompok Emulgel Calendula 20% (K4), kadar IL-6 tercatat paling tinggi sebesar $6,278 \pm 0,674$ ng/L.

Hasil uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa nilai p untuk seluruh kelompok lebih besar dari 0,05, yaitu pada kelompok Tikus Sehat (K1) sebesar 0,729, Kontrol Negatif (K2) sebesar 0,228, Emulgel Calendula 10% (K3) sebesar 0,450, dan Emulgel Calendula 20% (K4) sebesar 0,282. Hal ini menunjukkan bahwa data pada masing-masing kelompok terdistribusi normal. Selain itu, hasil uji *Levene Test* menunjukkan nilai p sebesar 0,214 ($p > 0,05$), yang mengindikasikan bahwa varians antar kelompok adalah homogen. Dengan terpenuhinya asumsi normalitas dan homogenitas, analisis dilanjutkan dengan *One Way ANOVA*.

Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan nilai $p < 0,001$ ($p < 0,05$), yang mengindikasikan adanya perbedaan yang signifikan antara kadar IL-6 pada minimal dua kelompok perlakuan. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian emulgel ekstrak calendula pada konsentrasi yang

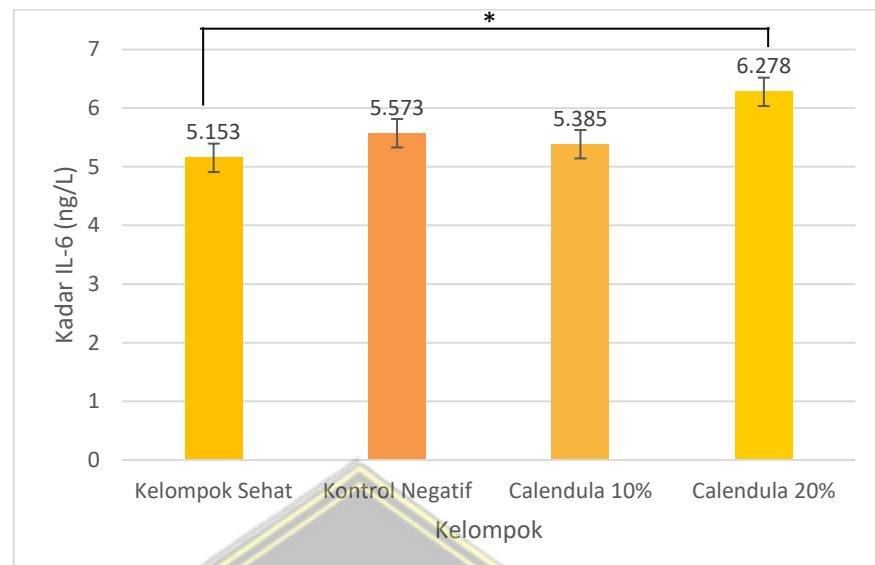
berbeda memiliki pengaruh terhadap kadar IL-6 pada kulit tikus Wistar jantan yang terpapar sinar UV-B. Sebagai langkah selanjutnya, uji lanjut *Post Hoc Tukey HSD* dapat digunakan untuk mengidentifikasi perbedaan antara setiap pasangan kelompok perlakuan terhadap kadar IL-6.

Tabel 5.2 Hasil Uji Post Hoc Tukey HSD setelah Perlakuan terhadap Rata-rata Kadar IL-6

Kelompok	K1	K2	K3	K4
K1	-	0,608	0,901	0,016*
K2		-	0,943	0,191
K3			-	0,068
K4				-

Keterangan: *Bermakna $p \leq 0,05$

Berdasarkan hasil uji Post Hoc Tukey HSD yang disajikan pada Tabel 5.2, terdapat perbedaan yang bermakna antara Kontrol Negatif (K1) dan Emulgel Calendula 20% (K4) dengan nilai $p = 0,016$ ($p < 0,05$), yang menunjukkan bahwa pemberian Emulgel Calendula 20% memberikan pengaruh signifikan terhadap kadar IL-6 dibandingkan dengan kelompok kontrol. Namun, tidak ada perbedaan signifikan antar kelompok lain yang menunjukkan bahwa perlakuan pada kelompok-kelompok tersebut tidak memberikan perbedaan yang bermakna terhadap kadar IL-6.



Gambar 5.3 Diagram Batang Kadar IL-6 pada Tiap Kelompok

5.1.3 Hasil Pemeriksaan Kadar EGF pada Darah

Hasil analisis rerata kadar EGF pada tiap kelompok hari ke-15 setelah perlakuan ditunjukkan pada tabel 5.3 sebagai berikut:

Tabel 5.3 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar EGF dan Kruskal Wallis

Kelompok	Tikus Sehat (K1)	Kontrol Negatif (K2)	Emulgel Calendula 10% (K3)	Emulgel Calendula 20% (K4)	<i>P value</i>
Kadar EGF ng/L					
Mean	280,272	350,725	285,590	346,078	
SD	31,155	31,038	37,986	38,559	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,467	0,505	0,006	0,189	
<i>Levene Test</i>					0,781
<i>Kruskal-Wallis</i>					0,007

Keterangan:

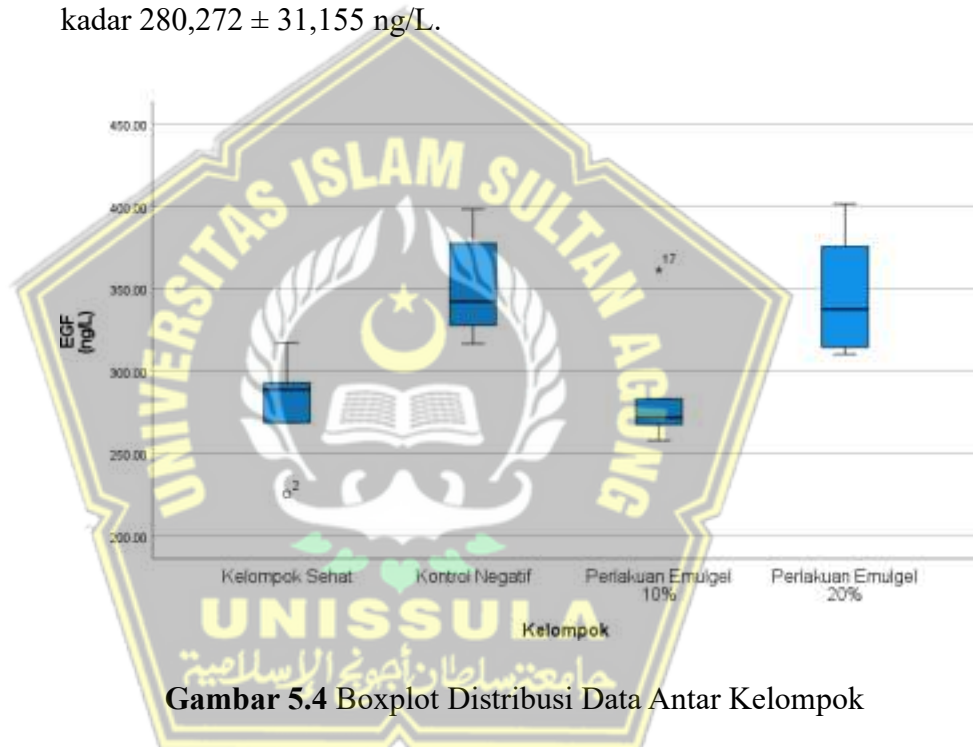
Shapiro-Wilk = Data tidak berdistribusi normal (K3 $p < 0,05$)

Levene Test = Data homogen ($p > 0,05$)

One Way ANOVA = Terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil uji deskriptif yang ditampilkan pada Tabel 5.3, kadar EGF tertinggi terdapat pada kelompok Kontrol Negatif (K2) dengan rata-rata $350,725 \pm 31,038$ ng/L. Hal ini dapat disebabkan oleh

pengaruh paparan sinar UV-B pada kelompok kontrol negatif yang memicu peningkatan kadar EGF. Kelompok Emulgel Calendula 20% (K4) menunjukkan kadar yang sedikit lebih rendah dibanding kontrol negatif yaitu $346,078 \pm 38,559$ ng/L. Selanjutnya, kelompok Emulgel Calendula 10% (K3) memiliki kadar EGF rata-rata $285,590 \pm 37,986$ ng/L, dan yang terendah adalah kelompok Tikus Sehat (K1) dengan kadar $280,272 \pm 31,155$ ng/L.



Gambar 5.4 Boxplot Distribusi Data Antar Kelompok

Hasil uji Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa data pada kelompok Emulgel Calendula 10% (K3) tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$), , hal ini sejalan dengan tampilan boxplot pada Gambar 5.4. Pada boxplot, simbol bintang (*) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok ini dengan kelompok lainnya, yang mengindikasikan bahwa distribusi data pada K3 berbeda secara signifikan dari kelompok lain. Perbedaan ini dipengaruhi oleh adanya penyimpangan dalam data,

yang dapat menyebabkan ketidaksesuaian dengan distribusi normal. Ini berarti bahwa distribusi data pada kelompok ini berbeda signifikan dari distribusi normal, menunjukkan adanya ketidakteraturan atau penyimpangan dalam data yang dapat disebabkan oleh variabilitas yang tinggi dan ukuran sampel yang kecil atau tidak representatif. Sementara itu, kelompok lainnya (Tikus Sehat (K1), Kontrol Negatif (K2), dan Emulgel Calendula 20% (K4)) memiliki nilai $p > 0,05$, yang mengindikasikan bahwa data pada kelompok-kelompok tersebut terdistribusi normal.

Uji Levene Test menghasilkan nilai $p = 0,781$ ($p > 0,05$), yang mengindikasikan bahwa varians antar kelompok adalah homogen atau setara. Berdasarkan terpenuhinya asumsi homogenitas, analisis dilanjutkan dengan Kruskal-Wallis. Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan nilai $p = 0,007$ ($p < 0,05$), yang mengindikasikan adanya perbedaan yang signifikan antara kadar EGF pada minimal dua kelompok perlakuan.

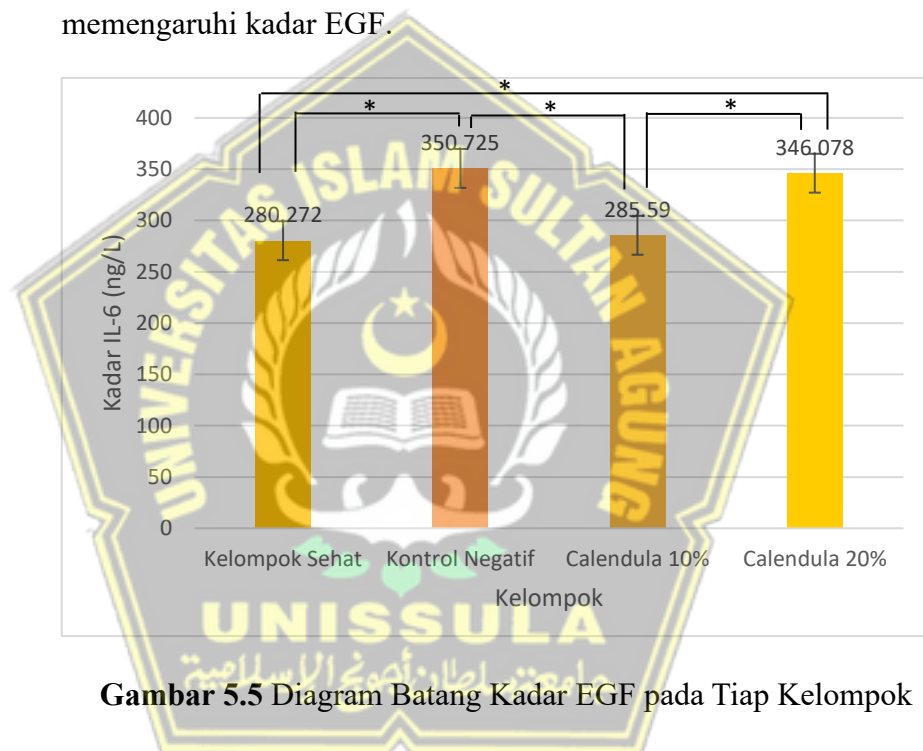
Tabel 5.4 Hasil Uji Post Hoc Mann Whitney setelah Perlakuan terhadap Rata-rata Kadar EGF

Kelompok	K1	K2	K3	K4
K1	-	0,006*	0,522	0,016*
K2		-	0,025*	0,522
K3			-	0,025*
K4				-

Keterangan: *Bermakna $p \leq 0,05$

Berdasarkan hasil uji Post Hoc Mann Whitney yang ditampilkan pada Tabel 5.4, terdapat perbedaan yang signifikan antara beberapa

kelompok terhadap kadar EGF. Pada perbandingan antara Tikus Sehat (K1) dan Kontrol Negatif (K2), nilai $p = 0,006$ ($p < 0,05$), yang menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok. Paparan sinar UV-B pada kelompok Kontrol Negatif (K2) memberikan efek yang cukup berbeda dibandingkan dengan kelompok Tikus Sehat (K1) yang tidak terpapar sinar UV-B, yang dapat memengaruhi kadar EGF.



Gambar 5.5 Diagram Batang Kadar EGF pada Tiap Kelompok

Hal serupa juga terlihat pada perbandingan Tikus Sehat (K1) dengan Emulgel Calendula 20% (K4), dengan nilai $p=0,016$ ($p < 0,05$), yang juga menunjukkan perbedaan yang signifikan. Pemberian Emulgel Calendula 20% memberikan efek yang cukup berbeda terhadap kadar EGF jika dibandingkan dengan kondisi Tikus Sehat (K1) yang tidak diberi paparan UV-B dan perlakuan. Hasil ini menunjukkan bahwa emulgel calendula dengan konsentrasi 20%

mempengaruhi kadar EGF, yang dapat disebabkan oleh efek biologis atau mekanisme yang dimediasi oleh kandungan aktif dalam ekstrak calendula.

Perbedaan signifikan selanjutnya ditemukan pada Kontrol Negatif (K2) dengan Emulgel Calendula 10% (K3), terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai $p = 0,025$ ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian Emulgel Calendula 10% pada kelompok yang sebelumnya terpapar sinar UV-B (Kontrol Negatif) mempengaruhi kadar EGF secara signifikan, dibandingkan dengan kelompok kontrol yang hanya terpapar UV-B tanpa perlakuan. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh efek dari kandungan aktif pada emulgel calendula yang memiliki kemampuan untuk mengubah respons biologis kulit terhadap paparan sinar UV-B, seperti stimulasi regenerasi kulit atau pengaturan kadar protein seperti EGF.

Perbedaan signifikan terakhir terlihat pada perbandingan antara Emulgel Calendula 10% (K3) dan Emulgel Calendula 20% (K4) dengan nilai $p = 0,025$ ($p < 0,05$). Hasil ini mengindikasikan bahwa perbedaan dosis Emulgel Calendula memiliki pengaruh yang berbeda terhadap kadar EGF.

5.2 Pembahasan

Sinar ultraviolet B (UVB) telah dikenal sebagai faktor eksternal yang berdampak signifikan terhadap kesehatan kulit. Salah satunya adalah berperan dalam berbagai perubahan biologis kulit serta berperan dalam respons inflamasi dan perbaikan jaringan. Paparan sinar UVB yang berlebihan dapat

menyebabkan kerusakan sel-sel epidermal, yang kemudian memicu pelepasan sitokin pro-inflamasi, terutama interleukin-6 (IL-6). IL-6 merupakan sitokin pro-inflamasi yang berperan dalam proses inflamasi dan penyembuhan jaringan, serta dapat berkontribusi pada perkembangan kondisi kulit seperti penuaan dini akibat paparan sinar matahari (*photoaging*).⁴³

Paparan sinar UVB yang berlebihan dapat meningkatkan produksi IL-6, yang berperan dalam memicu peradangan pada kulit dan juga dapat mempengaruhi produksi faktor pertumbuhan epidermal (EGF), yang penting untuk proses penyembuhan dan regenerasi kulit. Berbagai penelitian mencari solusi alami untuk mengurangi dampak tersebut, salah satunya dengan menggunakan *Calendula officinalis* atau marigold, yang dikenal memiliki sifat anti-inflamasi dan penyembuhan luka. Calendula diyakini dapat membantu memberikan perlindungan pada kulit dari paparan sinar UV dengan cara melawan kerusakan oksidatif dan mengurangi peradangan.⁴⁴

Calendula mengandung triterpenoid yang dapat memodulasi pelepasan IL-6 dengan menghambat jalur pensinyalan yang mengarah pada produksi sitokin ini. Dengan demikian, Calendula dapat mengurangi respons inflamasi yang berlebihan pada kulit yang terpapar sinar UV atau mengalami peradangan lainnya.⁴⁵ Selain itu, senyawa bioaktif yang terkandung dalam Calendula telah terbukti merangsang proliferasi fibroblas dan ekspresi faktor pertumbuhan sehingga Calendula memiliki potensi untuk memodulasi jalur pensinyalan yang terkait dengan EGF.⁴⁶

Paparan sinar UVB merangsang pembentukan ROS, seperti superoksida dan hidrogen peroksida, yang berperan dalam stres oksidatif dan aktivasi jalur

sinyal seluler. ROS yang terbentuk selanjutnya mengaktifkan jalur sinyal MAPK, termasuk p38, ERK1/2, dan JNK yang berperan dalam regulasi ekspresi gen inflamasi. Aktivasi jalur ini memicu aktivasi NF- κ B, yang translokasi p65 ke inti sel dan meningkatkan ekspresi IL-6. IL-6, sebagai sitokin inflamasi, berperan dalam respons peradangan yang diinduksi oleh kerusakan DNA akibat paparan UVB, memperburuk kondisi kulit dan memicu apoptosis seluler.^{47,48}

Meskipun Calendula umumnya diketahui memiliki sifat anti-inflamasi yang dapat menurunkan kadar IL-6, namun pada penelitian ini kadar IL-6 pada kelompok tikus yang mendapat emulgel calendula 20% (K4) justru lebih tinggi dibandingkan kelompok tikus yang hanya diberi base gel (K2). Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah dosis dan konteks penggunaan. Senyawa aktif dalam Calendula bersifat antioksidan dan dapat memodulasi sistem imun dengan meningkatkan respons imun seluler. Penelitian sebelumnya yang menggunakan calendula oral selama satu minggu menghasilkan temuan bahwa terdapat peningkatan yang signifikan dalam aktivitas imunologis yang dapat meningkatkan kekebalan tubuh melalui peningkatan aktivitas seluler yang terlibat dalam respons imun.⁴⁹

Dosis tinggi atau penggunaan dalam waktu lama dapat memicu respon imun yang lebih kuat, yang dapat menyebabkan peningkatan produksi IL-6 sebagai bagian dari mekanisme pertahanan tubuh. Respon imun yang berlebihan bisa menyebabkan peningkatan sitokin pro-inflamasi, termasuk IL-6. Hal ini terlihat bahwa kadar IL-6 pada kelompok tikus yang mendapat

emulgel calendula 20% (K4) lebih tinggi dibandingkan kelompok tikus yang mendapat emulgel calendula 10% (K3).

Selain itu, senyawa taraksasterol yang terkandung dalam ekstrak Calendula dapat meningkatkan pelepasan IL-6 yang diinduksi oleh LPS (*lipopolysaccharide*).⁴⁵ Penelitian ini menunjukkan bahwa efek dari Calendula terhadap IL-6 bisa bervariasi, tergantung pada komponen spesifik yang ada dalam ekstrak tersebut serta durasi penggunaannya. Hal ini menunjukkan komponen aktif dalam Calendula dapat berperan dalam meningkatkan atau menurunkan respons imun tergantung pada konteks penggunaannya. Efek calendula terhadap IL-6 memang dapat bervariasi tergantung pada berbagai faktor seperti jenis senyawa yang terkandung dalam ekstrak dan durasi serta cara penggunaannya.

Hasil uji Post Hoc Tukey HSD menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara K1 (Tikus Sehat) dan K4 (Emulgel Calendula 20%). Hal ini dapat dijelaskan dengan pengaruh dari pemberian emulgel calendula pada kelompok K4, yang berpotensi memicu peningkatan produksi IL-6 sebagai respons imun tubuh. Sementara itu, pada K1 yang merupakan kelompok tikus sehat tanpa perlakuan khusus, kadar IL-6 relatif lebih rendah karena tidak ada intervensi yang merangsang respon imun tubuh secara signifikan.

Dosis yang lebih rendah pada K3 (kelompok Emulgel Calendula 10%) menunjukkan kadar IL-6 yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok Kontrol Negatif (K2), namun tetap lebih tinggi daripada kelompok Tikus Sehat (K1). Temuan ini mengindikasikan bahwa meskipun emulgel calendula dengan konsentrasi 10% dapat mempengaruhi kadar IL-6, efeknya tidak sebesar pada

kelompok yang diberikan emulgel calendula dengan konsentrasi yang lebih tinggi (K4). Pada kelompok Kontrol Negatif (K2) yang hanya diberi base gel, kadar IL-6 cenderung lebih tinggi karena tidak ada faktor yang mengurangi atau memodulasi respons imun tubuh, sehingga IL-6 diproduksi secara alami sebagai bagian dari proses inflamasi atau stres biologis.⁴⁸

Di sisi lain, pemberian Emulgel Calendula 10% (K3) meskipun menginduksi peningkatan IL-6, tampaknya memiliki dampak yang lebih moderat dibandingkan dengan Kontrol Negatif (K2), yang bisa jadi disebabkan oleh dosis yang lebih rendah dari calendula yang digunakan, yang cukup untuk mempengaruhi sistem imun namun tidak menyebabkan respons inflamasi yang berlebihan. Hal ini menunjukkan bahwa efek dari calendula terhadap kadar IL-6 sangat dipengaruhi oleh konsentrasi dan dosis yang diberikan, serta dapat bervariasi tergantung pada kondisi eksperimental yang digunakan dalam penelitian ini.

Peningkatan ekspresi IL-6 akibat paparan UVB dapat mempengaruhi berbagai jalur sinyal seluler, termasuk jalur EGF yang berperan dalam regulasi pertumbuhan dan perbaikan sel kulit. IL-6 berpotensi meningkatkan ekspresi dan aktivitas EGF dalam kulit dengan merangsang produksi faktor pertumbuhan ini dari sel-sel dermal dan epidermal yang terpapar stres oksidatif. IL-6 dan EGF berinteraksi dalam proses penyembuhan jaringan, di mana IL-6 dapat mempercepat respon inflamasi sementara EGF terlibat dalam stimulasi proliferasi sel untuk memperbaiki kerusakan epidermis.⁵⁰

Paparan UVB juga mempengaruhi produksi faktor pertumbuhan epidermal (EGF), yang berperan dalam proses proliferasi dan diferensiasi sel-

sel epidermis. EGF bertugas merangsang regenerasi sel-sel kulit yang rusak akibat paparan UVB. Ketika kulit mengalami kerusakan akibat radiasi UV, EGF akan mengaktifkan jalur pensinyalan yang mendorong proliferasi sel epidermal, membantu proses penyembuhan luka dan perbaikan jaringan kulit.⁵¹ Namun, meskipun EGF berperan dalam pemulihan kerusakan jaringan, proses ini bisa menjadi lebih rumit jika disertai dengan peningkatan inflamasi yang berlebihan akibat produksi IL-6.

Pada hasil penelitian ini, kadar EGF paling rendah terdapat pada kelompok K1 (Tikus Sehat). Hal ini disebabkan kelompok tikus sehat tidak mengalami kondisi inflamasi atau stres. Kadar EGF dalam tubuh sehat tanpa stres atau cedera cenderung rendah karena tidak ada kebutuhan mendesak untuk perbaikan jaringan. Hal ini mencerminkan bahwa tubuh tidak memproduksi EGF secara berlebihan dalam kondisi normal tanpa adanya kerusakan jaringan atau peradangan.⁵²

Sebaliknya, kadar EGF paling tinggi ditemukan pada kelompok K2 (Kontrol Negatif). Hasil uji Post Hoc Mann-Whitney juga menunjukkan bahwa kadar EGF pada kelompok Kontrol Negatif (K2) lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan kelompok Tikus Sehat (K1), serta Perlakuan Emulgel 10% (K3) dan Perlakuan Emulgel 20% (K4) dalam beberapa perbandingan. Hal ini dapat disebabkan oleh reaksi tubuh terhadap kondisi stres atau peradangan yang tidak terkontrol pada kelompok kontrol negatif. EGF berperan penting dalam proses penyembuhan dan perbaikan jaringan, dan tubuh biasanya akan meningkatkan produksinya dalam situasi di mana ada kebutuhan untuk regenerasi sel atau perbaikan jaringan.⁵³

Meskipun perlakuan dengan emulgel Calendula pada konsentrasi 10% (K3) dan 20% (K4) bertujuan untuk merangsang regenerasi dan perbaikan jaringan, efek dari emulgel ini tidak cukup kuat untuk meningkatkan produksi EGF sebanyak yang terjadi pada kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan (K2). Hal ini menunjukkan bahwa respons tubuh terhadap kondisi alami yang memerlukan penyembuhan, seperti inflamasi atau cedera, cenderung lebih kuat dalam merangsang produksi EGF dibandingkan dengan intervensi menggunakan perlakuan tanaman pada dosis tertentu.

Pada perlakuan Emulgel 20% (K4), kadar EGF meningkat secara signifikan dibandingkan dengan kelompok Tikus Sehat (K1), yang menunjukkan bahwa dosis yang lebih tinggi dari calendula dapat memberikan stimulasi yang lebih kuat terhadap proses regenerasi dan proliferasi sel. Hal ini terkait dengan sifat antiinflamasi dan imunomodulator Calendula, yang telah terbukti dapat meningkatkan regenerasi jaringan dan mempercepat penyembuhan luka.⁴⁹

Pada sisi lain, perlakuan Emulgel 10% (K3) tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan Tikus Sehat (K1) dalam hal kadar EGF. Hal ini bisa dijelaskan dengan kenyataan bahwa dosis yang lebih rendah tidak cukup untuk merangsang produksi EGF secara maksimal. Walaupun calendula memiliki potensi untuk meningkatkan regenerasi sel, dosis yang lebih rendah seperti pada K3 hanya memberikan efek yang lebih ringan dibandingkan dengan dosis yang lebih tinggi.

Faktor lain yang bisa memengaruhi hasil ini adalah adanya variabilitas antar kelompok. Variabilitas ini bisa disebabkan oleh banyak hal, mulai dari

perbedaan individu dalam respon fisiologis masing-masing hewan percobaan hingga faktor lingkungan yang tidak sepenuhnya dapat dikontrol.⁵⁴ Meskipun seluruh kelompok percobaan menjalani prosedur yang serupa, perbedaan kecil dalam kondisi fisik, pola makan, atau bahkan stres yang tidak terdeteksi dapat menyebabkan perbedaan signifikan dalam hasil yang diperoleh. Selain itu, jumlah sampel yang terbatas dapat berkontribusi pada ketidakstabilan data, sehingga penelitian dengan sampel yang lebih besar diperlukan untuk mendapatkan hasil yang lebih dapat diandalkan.⁵⁵

IL-6 dan EGF saling berhubungan dalam proses penyembuhan dan perbaikan kulit, di mana IL-6 bertindak sebagai mediator inflamasi yang merangsang respons imun terhadap kerusakan, sementara EGF berperan dalam merangsang proliferasi sel kulit dan regenerasi jaringan. Peningkatan IL-6 yang berlebihan akibat paparan sinar UV dapat memicu peradangan yang mengganggu produksi EGF, yang pada gilirannya memperlambat proses regenerasi kulit. Sebaliknya, penurunan EGF akibat paparan UV yang terus-menerus dapat memperburuk efek inflamasi yang diinduksi oleh IL-6, menciptakan siklus yang memperburuk kerusakan kulit dan memperlambat proses penyembuhan.

Pengukuran kadar IL-6 dan EGF dilakukan menggunakan teknik ELISA pada sampel darah. Penggunaan teknik ELISA pada sampel serum darah dipilih karena kemampuannya secara akurat mengukur kadar biomarker dalam serum. Permukaan kulit yang luas membuat pengukuran kadar IL-6 dan EGF lebih tepat dilakukan melalui serum, karena serum dapat mencerminkan perubahan sistemik pada kulit tanpa memerlukan pengambilan sampel jaringan kulit

secara langsung atau prosedur invasif. Keunggulan lainnya adalah sampel darah lebih mudah diambil dan diproses dibandingkan dengan sampel jaringan kulit yang memerlukan serangkaian proses sebelum pemeriksaan kadar.⁵⁶

Sebagai saran untuk penelitian selanjutnya, penting untuk melakukan penelitian dengan jumlah sampel yang lebih besar untuk mengurangi variabilitas individu dan meningkatkan validitas hasil. Selain itu, penentuan dosis yang lebih optimal serta durasi perlakuan yang lebih panjang perlu dieksplorasi untuk memahami lebih lanjut bagaimana *Calendula* dapat memberikan efek terbaik terhadap kadar EGF dan IL-6.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis* L. tidak berpengaruh terhadap kadar IL-6 pada kulit tikus Wistar jantan yang terpapar sinar UV-B dibandingkan kontrol negatif, namun berpengaruh terhadap kadar EGF.
2. Pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis* L. dengan konsentrasi 10% berpengaruh signifikan terhadap penurunan kadar EGF pada kulit tikus Wistar jantan yang terpapar sinar UV-B dibandingkan kontrol negatif, namun tidak berpengaruh terhadap kadar IL-6.
3. Pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis* L. dengan konsentrasi 20% tidak menunjukkan pengaruh signifikan terhadap kadar IL-6 dan EGF pada kulit tikus Wistar jantan yang terpapar sinar UV-B dibandingkan kontrol negatif.

6.2 Saran

1. Menggunakan sampel yang lebih besar untuk meningkatkan akurasi hasil dan mengurangi variabilitas antar individu dalam setiap kelompok perlakuan.
2. Mengamati interaksi antara *Calendula* dengan senyawa lain yang dapat meningkatkan efek terapeutik Emulgel *Calendula*, seperti senyawa antioksidan tambahan untuk mengurangi stres oksidatif.
3. Menggunakan variasi dosis yang lebih banyak untuk menentukan dosis optimal yang dapat memberikan efek terbaik dalam menurunkan kadar IL-

6 dan EGF tanpa menimbulkan efek samping yang berlebihan.

4. Memperpanjang durasi pengamatan untuk mengevaluasi efek jangka panjang pemberian Emulgel Calendula terhadap kadar IL-6 dan EGF, sehingga dapat melihat perkembangan penyembuhan dan perbaikan jaringan yang lebih lengkap.
5. Mengontrol kondisi lingkungan selama eksperimen, seperti suhu, kelembapan, dan pola makan, untuk meminimalkan faktor eksternal yang dapat mempengaruhi hasil penelitian dan memastikan bahwa variabel ini tidak memengaruhi respons biologis hewan percobaan.



DAFTAR PUSTAKA

1. Lee SE, Kwon TR, Kim JH, et al. Anti-photoaging and anti-oxidative activities of natural killer cell conditioned medium following UV-B irradiation of human dermal fibroblasts and a reconstructed skin model. *Int J Mol Med* 2019;44(5):1641–1652.
2. Michalak M. Plant Extracts as Skin Care and Therapeutic Agents. *Int J Mol Sci.* 2023;24(20).
3. Dunaway S, Odin R, Zhou L, Ji L, Zhang Y, Kadekaro AL. Natural antioxidants: Multiple mechanisms to protect skin from solar radiation. *Front Pharmacol.* 2018;9(APR).
4. Chen W, Deng Q, Deng B, et al. Comprehensive analysis of Hibisci mutabilis Folium extract's mechanisms in alleviating UV-induced skin photoaging through enhanced network pharmacology and experimental validation. *Front Pharmacol* 2024;15.
5. 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.
6. Brahmani H, Dyah Puspitasari G. PERAN ELASTIN DALAM PROSES PHOTOAGING KULIT.
7. Ejiohuo O, Folami S, Maigoro AY. Calendula in modern medicine: Advancements in wound healing and drug delivery applications. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports.* 2024;12.
8. Auh JH, Madhavan J. Protective effect of a mixture of marigold and rosemary extracts on UV-induced photoaging in mice. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 2021;135.
9. Patil DY, Society's U. A NOVEL FORMULATION AND EVALUATION OF WOUND HEALING CREAM CONTAINING CALENDULA EXTRACT COATED ON SILVER NANO PARTICLES R. K. Nanda*, Harshada Asutkar Rabindra Kumar Nanda. 2023;
10. Rohmani S, Mar'atushsholihah L, Darojati UA, Meitasari AD, Susanto

- BNA. Formulation and Activity of Sunscreen Cream from Ethanol Extract of *Calendula officinalis* L Flowers. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis* [homepage on the Internet] 2024;11(1):48–57. Available from: <https://jsfk.ffarmasi.unand.ac.id/index.php/jsfk/article/view/1547>
11. Jayapal J, Siyabudeen M, S D, Dileep A, S S. Formulation And Evaluation of Facial Serum Containing Marigold and Rose Petal Extracts for Skin Regeneration and Collagen Production. *Int J of Pharm Sci* [homepage on the Internet] 2025;3:2454–2464. Available from: <https://www.ijpsjournal.com>
 12. Yuniarti Jurusan Biologi E, Universitas Negeri Padang Jln Hamka Air Tawar Padang F. PENGARUH LATIHAN SUBMAKSIMAL TERHADAP KADAR INTERLEUKIN-6 PADA SISWA PUSAT PENDIDIKAN LATIHAN PELAJAR SUMATERA BARAT. 2014;VI(2):189–192.
 13. Fihn SD, Blankenship JC, Alexander KP, et al. 2014 ACC/AHA/AATS/PCNA/SCAI/STS Focused Update of the Guideline for the Diagnosis and Management of Patients With Stable Ischemic Heart Disease A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines, and the American Association for Thoracic Surgery, Preventive Cardiovascular Nurses Association, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. *Circulation*. 2014;130(19):1749–1767.
 14. Oky P, Tania A. KADAR INTERLEUKIN 6 (IL-6) SEBAGAI INDIKATOR PROGRESIVITAS PENYAKIT REUMATOID ARTHRITIS (RA). 2014;
 15. Suyasa IK, Kawiyana IKS, Bakta IM, Widiani IGR. Interleukin-6 and ratio of plasma interleukin-6/ interleukin-10 as risk factors of symptomatic lumbar osteoarthritis. *World J Orthop* 2017;8(2):149–155.
 16. Niu W, Liu Y, Qi Y, Wu Z, Zhu D, Jin W. Association of interleukin-6 circulating levels with coronary artery disease: A meta-analysis implementing mendelian randomization approach. *Int J Cardiol* 2012;157(2):243–252.
 17. Masfufatun M, Tania POA, Raharjo LH, Baktir A. Kadar IL-6 dan IL-10

Serum pada Tahapan Inflamasi di *Rattus norvegicus* yang terinfeksi *Candida albicans*. Jurnal Kedokteran Brawijaya 2018;19–23.

18. Kang S, Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Targeting Interleukin-6 Signaling in Clinic. *Immunity*. 2019;50(4):1007–1023.
19. Shin SH, Koh YG, Lee WG, Seok J, Park KY. The use of epidermal growth factor in dermatological practice. *Int Wound J*. 2023;20(6):2414–2423.
20. Dintasari C, Baszary U, Sumitro SB, Sasmito Djati M, Widjanto DE. PENGARUH INDUKSI EPIDERMAL GROWTH FACTOR (EGF) TERHADAP PROTEIN Cx43 SELAMA EKSPANSI SEL KUMULUS
Induction Effect of Epidermal Growth Factor (EGF) Against Cx43 Protein During the Cumulus Cell Expansion. 2012;
21. Rehfuss Eva. Global solar UV index : a practical guide. World Health Organization, 2002;
22. Respati RA, Yusharyahya SN, Wibawa LP, Widaty S. The Dermoscopic Features of Photoaging and Its Association with Sun Index Score in the Coastal Population at Cilincing, Jakarta: A Cross-Sectional Study. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2022;15:939–946.
23. Parente LML, Lino Júnior RDS, Tresvenzol LMF, Vinaud MC, Paula JR De, Paulo NM. Wound healing and anti-inflammatory effect in animal models of *calendula officinalis* L. growing in Brazil. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2012;2012.
24. Nafiah SR, Fitraneti E, Rizal Y, Primawati I, Hamama DA. Pengaruh Paparan Sinar Ultraviolet terhadap Kesehatan Kulit dan Upaya Pencegahannya : Tinjauan Literatur. 2024;
25. Barnes TC, Anderson ME, Moots RJ. The many faces of interleukin-6: The role of IL-6 in inflammation, vasculopathy, and fibrosis in systemic sclerosis. *Int J Rheumatol*. 2011;2011.
26. Hamdi S. Analysis of ultraviolet index, ultraviolet B insolation, and sunshine duration at Bandung in year 2017. In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Institute of Physics Publishing, 2019;
27. Carpenter MA, Ginugu M, Khan S, Kemp MG. DNA Containing

- Cyclobutane Pyrimidine Dimers Is Released from UVB-Irradiated Keratinocytes in a Caspase-Dependent Manner. *Journal of Investigative Dermatology* 2022;142(11):3062-3070.e3.
28. Mescher AL. Janquiera's Basic Histology. 15th ed. . New York: McGraw-Hill, 2021;
 29. Lee CH, Wu SB, Hong CH, Yu HS, Wei YH. Molecular mechanisms of UV-induced apoptosis and its effects on skin residential cells: The implication in UV-based phototherapy. *Int J Mol Sci* 2013;14(3):6414–6435.
 30. Budden T, Gaudy-Marqueste C, Porter A, et al. Ultraviolet light-induced collagen degradation inhibits melanoma invasion. *Nat Commun* 2021;12(1).
 31. Yardman-Frank JM, Fisher DE. Skin pigmentation and its control: From ultraviolet radiation to stem cells. *Exp Dermatol*. 2021;30(4):560–571.
 32. Mayasari AC, Wratsangka R. Hubungan antara ekspresi vascular endothelial growth factor (VEGF) jaringan dengan respon kemoradiasi pada pasien kanker serviks. *Jurnal Biomedika dan Kesehatan* 2020;3(2):63–69.
 33. Alsaraf KM, Abbas IS, Hassan EF. Extraction and clinical application of calendula officinalis L. flowers cream. *IOP Conf Ser Mater Sci Eng* 2019;571(1).
 34. Silva D, Ferreira MS, Sousa-Lobo JM, Cruz MT, Almeida IF. Anti-inflammatory activity of calendula officinalis l. Flower extract. *Cosmetics* 2021;8(2).
 35. Baskaran K. *Pharmacological Activities of Calendula Officinalis*. 2015;
 36. Rezai S, Rahzani K, Hekmatpou D, Rostami A. Effect of oral Calendula officinalis on second-degree burn wound healing . *Scars Burn Heal* 2023;9:205951312211340.
 37. Shahane K, Kshirsagar M, Tambe S, et al. An Updated Review on the Multifaceted Therapeutic Potential of Calendula officinalis L. *Pharmaceuticals*. 2023;16(4).
 38. Damayanti, Prakoeswa CRS, Purwanto DA, et al. Wistar Rat as Photoaging Mouse Model. 2023;
 39. Niczyporuk M. Rat skin in experimental medicine Received: 07.11. 2018;

40. Rosita C, Prakoeswa S. Wistar Rat as Photoaging Mouse Model. 2023;
41. Naveed A, uz Zaman S, Ali Khan B, et al. Evaluation of various functional skin parameters using a topical cream of *Calendula officinalis* extract. Article in *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2011;5(2):199–206.
42. Krissanti I, Hanifa R, Dwiwina RG. Efektivitas dan Pengaruh Kombinasi Anestesi Ketamine-Xylazine pada Tikus (*Rattus norvegicus*). Gunung Djati Conference Series [homepage on the Internet] 2023;18. Available from: <https://conference.uinsgd.ac.id/index.php/Telp/Fax>:
43. Keet L, Magcwebaba T, Abel S, Louw A, Gelderblom W, Lilly M. Modulation of UVB-induced oxidative stress and inflammation in skin keratinocytes (HaCaT) utilising unfermented rooibos and honeybush aqueous extracts. *J Photochem Photobiol* 2024;22:100242.
44. Shahane K, Kshirsagar M, Tambe S, et al. An Updated Review on the Multifaceted Therapeutic Potential of *Calendula officinalis* L. *Pharmaceuticals* 2023;16(4):611.
45. Golubova D, Salmon M, Su H, et al. Biosynthesis and bioactivity of anti-inflammatory triterpenoids in *Calendula officinalis*. *Nat Commun* 2025;16(1):6941.
46. Hormozi M, Gholami M, Babaniazi A, Gharravi AM. *Calendula officinalis* stimulate proliferation of mouse embryonic fibroblasts via expression of growth factors TGFβ1 and bFGF. *Inflamm Regen* 2019;39:7.
47. Gunaseelan S, Balupillai A, Govindasamy K, et al. Linalool prevents oxidative stress activated protein kinases in single UVB-exposed human skin cells. *PLoS One* 2017;12(5):e0176699.
48. Ansary TM, Hossain MdR, Kamiya K, Komine M, Ohtsuki M. Inflammatory Molecules Associated with Ultraviolet Radiation-Mediated Skin Aging. *Int J Mol Sci* 2021;22(8):3974.
49. Aurel V, Sandru C, Pall E, et al. IMMUNOLOGICAL INFLUENCES OF THE *CALENDULA OFFICINALIS* TEA TREATMENT IN DAIRY COWS. *Current Perspectives on Medicinal and Aromatic Plants (CUPMAP)* 2024;

50. Roy A, Segond von Banchet G, Gimeno-Ferrer F, et al. Impact of Interleukin-6 Activation and Arthritis on Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Activation in Sensory Neurons and the Spinal Cord. *Int J Mol Sci* 2024;25(13):7168.
51. Xu Y, Voorhees JJ, Fisher GJ. Epidermal Growth Factor Receptor Is a Critical Mediator of Ultraviolet B Irradiation-Induced Signal Transduction in Immortalized Human Keratinocyte HaCaT Cells. *Am J Pathol* 2006;169(3):823–830.
52. Human Protein Atlas. EGF Tissue Expression Summary. <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000138798-EGF/tissue>. 2025;
53. Ding R, Wei X, Liu Y, et al. Epidermal growth factor-loaded microspheres/hydrogel composite for instant hemostasis and liver regeneration. *Smart Mater Med* 2023;4:173–182.
54. Sajjanar B, Krishnaswamy N, Saxena VK, Dhara SK. Stress Responses to Changing Environmental Factors in the Domestic Animals: An Epigenetic Perspective. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2025;109(4):1000–1016.
55. Netz Y, Lidor R, Ziv G. Small samples and increased variability – discussing the need for restricted types of randomization in exercise interventions in old age. *European Review of Aging and Physical Activity* 2019;16(1):17.
56. Matson RS. Interference in ELISA. . In: Matson RS, editor. *ELISA: Methods and Protocols*. 2023; p. 91–99. Springer Nature