

**PENGARUH PEMBERIAN EMULGEL EKSTRAK
CALENDULA (*Calendula Officinalis. L*) TERHADAP
KADAR TNF- α DAN VEGF**

**(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

**Puty Annisa Prilina
MBK. 24.23.010462**

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

2025

TESIS
PENGARUH PEMBERIAN EMULGEL EKSTRAK
CALENDULA (*Calendula Officinalis. L*) TERHADAP KADAR
TNF- α DAN VEGF
(Studi Eksperimental Pada Model Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi
Paparan Sinar UV-B)

Disusun oleh:
Puty Annisa Prilina
MBK. 24.23.010462

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 : Puty Annisa Prilina

Tempat / Tanggal lahir : Bukittinggi, 09 April 1995

Agama : Islam

Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK. Al Quran YPI Al Azhar Kota Bukittinggi : Lulus tahun 2001
2. SDN 02 Percontohan Bukittinggi : Lulus tahun 2007
3. SMPN 01 Bukittinggi : Lulus tahun 2009
4. SMAN 01 Bukittinggi : Lulus tahun 2012
5. S1 Pendidikan Dokter Universitas Batam : Lulus tahun 2016
6. Pendidikan Profesi Dokter : Lulus tahun 2018
7. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : (2024 – sekarang)

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Suami : dr. Andrianus Mooy
2. Nama Anak : - Elnara Aiza Selyn
- Elvan Muhammad Atharrazka

KATA PENGANTAR

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

Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh emulgelar 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. 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 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, 08 Agustus 2025

Penulis

(Puty)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
RIWAYAT HIDUP	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR SINGKATAN.....	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.4.1 Manfaat Teoritis	3
1.4.2 Manfaat Praktis	4
1.5 Originalitas Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 <i>Tumor Necrosis Factor</i> (TNF- α)	8
2.1.1 Peran TNF- α dalam Photoaging	11
2.1.2 Metode Analisa TNF- α	11
2.2 <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (VEGF)	12
2.2.1 Fungsi Utama VEGF.....	13
2.2.2 Mekanisme Aksi VEGF	14
2.2.3 Jalur Sinyal Utama VEGF	14
2.2.4 Metode Analisa VEGF	15
2.3 Sinar Ultraviolet (UV).....	16

2.3.1 <i>Photoaging</i>	17
2.3.2 Pengaruh Paparan Sinar UV-B terhadap Kulit	19
2.4 <i>Calendula Officinalis</i> L.....	20
2.4.1 Senyawa Aktif <i>Calendula</i>	22
2.4.2 <i>Calendula Officinalis</i> sebagai Agen Anti-Inflamasi	23
2.5 Penggunaan Emulgel Berbasis Ekstrak <i>Calendula</i> dalam Pengobatan Kerusakan Kulit.....	26
2.6 Efek Sinar UV-B terhadap TNF- α dan VEGF	27
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS	29
3.1 Kerangka Teori	29
3.2 Kerangka Konsep	33
3.3 Hipotesis Penelitian	33
BAB IV METODE PENELITIAN	34
4.1 Rancangan Penelitian	34
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian.....	35
4.2.1 Populasi Penelitian	35
4.2.2 Sampel Penelitian.....	35
4.3 Variabel dan Definisi Operasional	36
4.3.1 Variabel Penelitian.....	36
4.3.2 Definisi Operasional.....	36
4.4 Bahan Penelitian.....	38
4.5 Peralatan Penelitian	39
4.6 Cara Penelitian	40
4.6.1 Permohonan <i>Ethical Clearance</i>	40
4.6.2 Persiapan Tikus Uji	40
4.6.3 Pembuatan Ekstrak <i>Calendula Officinalis</i> . L.....	41
4.6.4 Pembuatan dan Pemberian Emulgel Ekstrak <i>Calendula</i>	41
4.6.5 Induksi <i>Photodamaged</i> dengan Sinar UV-B	42
4.6.6 Pengukuran Kadar (TNF- α , VEGF)	42
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 Kadar TNF- α	46
5.1.2 Kadar VEGF	50
5.2 Pembahasan	52
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	56
6.1 Kesimpulan	56
6.2 Saran	56
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	64



DAFTAR TABEL

1.1 Tabel Originalitas Penelitian	5
3.1 Formula Emulgel Ekstrak Calendula.....	42
5.1 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar TNF- α dan One Way ANOVA	47
5.2 Hasil Uji Post Hoc Tukey HSD Kadar TNF- α	50
5.3 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar VEGF dan One Way ANOVA.....	51



DAFTAR GAMBAR

2.1 Jalur Pensinyalan TNF- α	9
2.2 Jalur Transduksi VEGF	12
2.3 Panjang Sinar Ultraviolet Menembus Lapisan Kulit	16
2.4 Skema Photoaging	18
2.5 Bunga Calendula	21
2.6 Struktur Calendula	22
2.7 Jalur dan Mekanisme Calendula	24
3.1 Kerangka Teori	32
3.2 Kerangka Konsep	33
4.1 Skema Rancangan Penelitian	34
4.2 Alur Penelitian	43
5.1 Gambaran makroskopis jaringan kulit tikus	46
5.2 Kadar TNF- α dari darah orbita tikus pada tiap kelompok perlakuan	47
5.3 Kadar VEGF dari darah orbita tikus pada tiap kelompok perlakuan	51



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Izin Etik Penelitian	64
Lampiran 2 coA Ekstrak Calendula dari PT INBI	65
Lampiran 3 Cream Gel Calendula PT Derma Elok	66
Lampiran 4 Hasil Penelitian.....	67
Lampiran 5 Dokumentasi Penelitian.....	68
Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian Proses Photoaging Kulit Tikus.....	68
Lampiran 7 Hasil SPSS TNF- α	70
Lampiran 8 Hasil SPSS VEGF	73



DAFTAR SINGKATAN



AhR	: <i>Aryl Hydrocarbon Receptor</i>
ASK1	: <i>Apoptosis Signal-Regulating Kinase 1</i>
COA	: <i>Certificate of Analysis</i>
ECM	: <i>Extracellular Matrix</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
JNK	: <i>c-Jun N-terminal Kinase</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MMP	: <i>Matrix Metalloproteinase</i>
MSDS	: <i>Material Safety Data Sheet</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor Kappa Beta</i>
NIK	: <i>NF-κB-Inducing Kinase</i>
PI3K	: <i>Phosphatidylinositol 3-Kinase</i>
PLC- γ	: <i>Phospholipase C-Gamma</i>
RIP	: <i>Receptor-Interacting Protein</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TACE	: <i>TNF-Alpha Converting Enzyme</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor-Alpha</i>
TRAF2	: <i>TNF Receptor-Associated Factor 2</i>
UV	: <i>Ultraviolet</i>
UV-A	: <i>Ultraviolet A</i>
UV-B	: <i>Ultraviolet B</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

ABSTRAK

Latar Belakang: Paparan ultraviolet B (UV-B) memicu *photoaging* melalui peningkatan mediator inflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α) dan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF). *Calendula officinalis* L. mengandung flavonoid, triterpenoid, dan karotenoid yang berpotensi menghambat inflamasi serta memperbaiki angiogenesis. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis* L. terhadap kadar TNF- α dan VEGF pada tikus Wistar yang diinduksi paparan UV-B.

Metode: Penelitian eksperimental in vivo dengan post-test only control group design menggunakan 24 ekor tikus Wistar jantan yang dibagi menjadi 4 kelompok: kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan emulgel ekstrak calendula 10%, dan 20%. Paparan UV-B diberikan selama 14 hari, diikuti aplikasi emulgel sekali sehari. Pengukuran TNF- α dan VEGF dilakukan menggunakan metode ELISA.

Hasil: Rerata kadar TNF- α pada K3 ($201,34 \pm 11,79$ ng/mL) lebih rendah secara signifikan dibanding kelompok kontrol dengan perbedaan bermakna ($p=0,001$). Rerata kadar VEGF pada K4 ($1312,30 \pm 220,13$ ng/mL) lebih tinggi dibanding kelompok kontrol dengan tetapi tidak terdapat perbedaan bermakna ($p=0,258$).

Kesimpulan: Pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis* 10% (K3) yang dapat menurunkan kadar TNF- α , sedangkan konsentrasi 20% (K4) yang dapat meningkatkan kadar VEGF pada kondisi *photoaging*, dimana hanya terjadi peningkatan kadarnya saja tetapi secara statistik tidak ada perbedaan yang signifikan.

Kata Kunci: Emulgel ekstrak calendula (*Calendula officinalis*), TNF- α , VEGF, *photoaging*, UV-B, tikus Wistar.

ABSTRACT

Background: Exposure to ultraviolet B (UV-B) rays triggers photoaging through an increase in inflammatory mediators such as Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) and Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). *Calendula officinalis* L. contains flavonoids, triterpenoids, and carotenoids that have the potential to inhibit inflammation and improve angiogenesis. This study aims to evaluate the effect of *Calendula officinalis* L. extract emulgel administration on TNF- α and VEGF levels in Wistar rats induced by UV-B exposure.

Methods: An in vivo experimental study with a post-test only control group design was conducted using 24 male Wistar rats divided into 4 groups: negative control, positive control, 10% calendula extract emulgel treatment, and 20% calendula extract emulgel treatment. UV-B exposure was administered for 14 days, followed by once-daily application of the emulgel. TNF- α and VEGF levels were measured using the ELISA method.

Results: The mean TNF- α level in K3 (201.34 ± 11.79 ng/mL) was significantly lower than that in the control group with a significant difference ($p = 0.001$). The mean VEGF level in K4 (1312.30 ± 220.13 ng/mL) was higher than that in the control group, but there was no significant difference ($p=0.258$).

Conclusion: Administration of 10% *Calendula officinalis* extract emulgel (K3) reduced TNF- α levels, while 20% concentration (K4) increased VEGF levels in photoaging conditions, where only an increase in levels occurred but there was no statistically significant difference.

Keywords: *Calendula* extract emulgel (*Calendula officinalis*), TNF- α , VEGF, photoaging, UV-B, Wistar rats.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Paparan sinar ultraviolet B (UV-B) secara berlebihan telah terbukti memicu inflamasi dan stres oksidatif pada kulit, yang dapat mengakibatkan kerusakan jaringan, penebalan epidermis, dan percepatan penuaan kulit.^{1,2} Sinar UV-B dapat menembus lapisan epidermis dan memicu stres oksidatif, peradangan, serta kerusakan matriks ekstraseluler, yang pada akhirnya mengganggu struktur dan fungsi normal jaringan kulit. Kondisi ini tidak hanya mempercepat terjadinya penuaan kulit (*photoaging*), tetapi juga menghambat proses regenerasi serta meningkatkan risiko munculnya berbagai gangguan kulit kronis.²

Indonesia sebagai negara tropis memiliki prevalensi tinggi *photoaging* akibat paparan sinar UV-B. Mayangsari et al. (2024) melaporkan bahwa 51% subjek mengalami kerutan parah serta perubahan histologis berupa penebalan epidermis dan penipisan dermis setelah paparan UV-B. Gejala *photoaging* paling sering ditemukan pada etnis Jawa (30,5%), usia 30–39 tahun (59,1%), pekerja indoor (71%), individu dengan paparan >34 jam/minggu (62%), serta tipe kulit Fitzpatrick IV (65%).³ Terapi kimia yang umum digunakan untuk *photoaging* akibat UV-B meliputi retinoid, asam alfa hidroksi (AHA), asam glikolat, dan hidrokuinon dalam bentuk krim atau topikal. Meski efektif, terapi ini sering menimbulkan efek samping berupa iritasi, kemerahan, gatal, pengelupasan kulit, hingga reaksi hipersensitivitas dalam jangka panjang.⁴ Oleh karena itu, diperlukan pengembangan agen topikal berbasis herbal yang aman dan efektif untuk memitigasi dampak buruk paparan UV-B, sebagai bagian dari strategi dermatologis dalam penelitian eksperimental.

Paparan sinar ultraviolet B (UVB) dalam jangka panjang memicu terjadinya stres oksidatif di jaringan epidermis dan dermis melalui pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebihan. ROS ini mengaktifkan berbagai jalur molekuler inflamasi, termasuk aktivasi kompleks inflammasom dan transkripsi *Nuclear Factor Kappa Beta* (NF- κ B), yang berperan penting dalam peningkatan ekspresi sitokin proinflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- α). TNF- α selanjutnya memperburuk kerusakan matriks ekstraseluler dengan meningkatkan ekspresi enzim *matriks metalloproteinase* (MMP), terutama MMP-1 dan MMP-9, yang menyebabkan degradasi kolagen dan elastin, serta disorganisasi struktur dermal.⁵ Di sisi lain, ROS juga menyebabkan hipoksia jaringan lokal dan menginduksi jalur *Hypoxia-Inducible Factor 1-alpha* (HIF-1 α), yang bersama-sama dengan NF- κ B, mendorong peningkatan ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), yang berperan dalam angiogenesis sebagai respons terhadap kerusakan dan stres lingkungan, namun aktivitas berlebihnya turut berkontribusi terhadap perubahan vaskularisasi kulit yang tidak normal pada kondisi *photoaging*.⁶ Kombinasi dari peningkatan TNF- α dan VEGF membentuk suatu lingkungan mikro inflamasi dan proangiogenik yang mempercepat proses penuaan kulit secara struktural dan fungsional, ditandai dengan kerutan, penipisan dermis, serta pigmentasi tidak merata.^{5,6}

Salah satu alternatif bahan alami yang menjanjikan sebagai upaya penanganannya adalah *Calendula officinalis* L. Tanaman tradisional ini telah digunakan untuk mengobati luka dan inflamasi kulit, dan kini mendapat perhatian ilmiah karena kandungan aktifnya seperti flavonoid, triterpenoid, dan karotenoid.^{7,8} Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *Calendula officinalis* L. memiliki potensi menurunkan ekspresi sitokin proinflamasi seperti TNF- α serta menekan peningkatan VEGF yang berperan dalam proses

angiogenesis patologis akibat paparan UV-B. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis* L. terhadap kadar TNF- α dan VEGF pada tikus Wistar yang diinduksi dengan paparan UV-B.^{9,10}

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis* L. mempengaruhi kadar TNF- α dan VEGF pada tikus Wistar jantan yang diinduksi paparan sinar UV-B?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menganalisis pengaruh pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis* L. terhadap kadar TNF- α dan VEGF pada tikus Wistar jantan yang diinduksi paparan sinar UV-B.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis pengaruh pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis* L. dengan konsentrasi 10% terhadap kadar TNF- α dan VEGF pada tikus Wistar jantan yang diinduksi sinar UV-B.
2. Menganalisis pengaruh pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis* L. dengan konsentrasi 20% terhadap kadar TNF- α dan VEGF pada tikus Wistar jantan yang diinduksi sinar UV-B.

1.4 Manfaat Penelitian

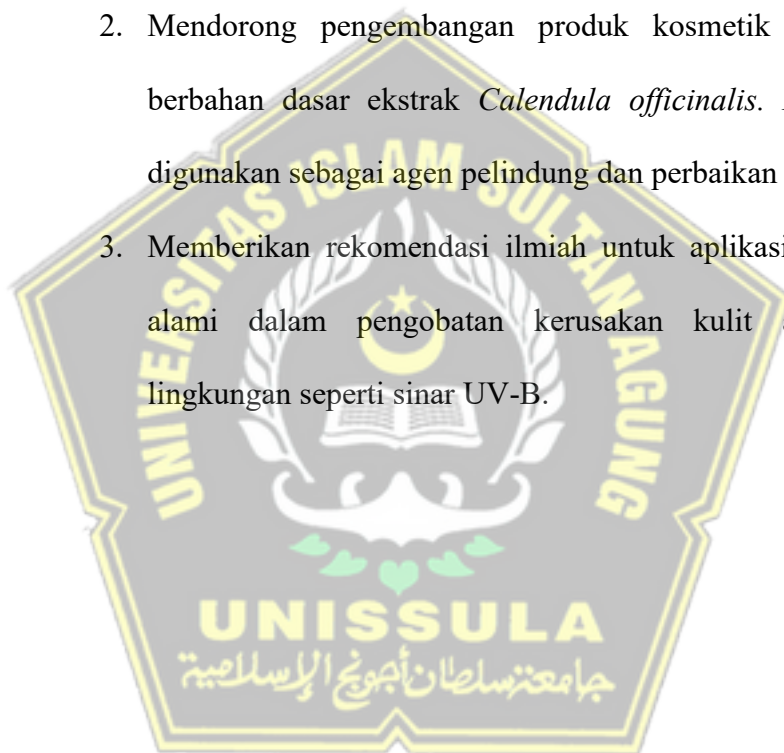
1.4.1 Manfaat Teoritis

1. Menambah pengetahuan ilmiah dalam bidang dermatologi dan farmakologi mengenai potensi *Calendula officinalis* L. sebagai agen terapi alami untuk mengatasi kerusakan kulit akibat paparan sinar UV-B.

2. Memperkuat dasar ilmiah mengenai peran *Calendula officinalis*. *L* dalam mengatur sitokin pro-inflamasi (TNF- α) dan faktor pertumbuhan angiogenik (VEGF) pada kulit yang mengalami *photodamaged*.

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Memberikan alternatif terapi topikal berbasis bahan alami yang berpotensi untuk menurunkan peradangan dan meningkatkan proses penyembuhan kulit akibat paparan sinar UV-B.
2. Mendorong pengembangan produk kosmetik atau farmasi berbahan dasar ekstrak *Calendula officinalis*. *L* yang dapat digunakan sebagai agen pelindung dan perbaikan kulit.
3. Memberikan rekomendasi ilmiah untuk aplikasi klinis bahan alami dalam pengobatan kerusakan kulit akibat faktor lingkungan seperti sinar UV-B.



1.5 Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Tabel Originalitas Penelitian

Peneliti	Judul Penilitan	Metode	Hasil
Silva <i>et al.</i> (2021)	<i>Anti-Inflammatory Activity of Calendula officinalis L. Flower Extract.</i>	Studi in vitro dan in vivo, ekstrak calendula diuji pada makrofag dan kulit setelah UV-B.	Ekstrak calendula menurunkan ekspresi iNOS dan TNF- α , mempercepat pemulihan jaringan. ¹¹
Lohani & Morganti (2022)	<i>Age-Defying and Photoprotective Potential of Geranium/Calendula Essential Oil Encapsulated Vesicular Cream on Biochemical Parameters against UVB Radiation Induced Skin Aging in Rat</i>	Studi in vivo pada tikus Wistar albino yang dipapar sinar UV-B untuk melihat evaluasi menyeluruh dari efek perlindungan krim terhadap <i>photoaging</i>	Krim vesikular yang mengandung minyak esensial <i>Calendula officinalis</i> dan <i>Geranium</i> menunjukkan aktivitas fotoprotektif dan anti- <i>photoaging</i> signifikan. ¹²
Qian <i>et al.</i> (2023)	<i>Mechanism of Action of Oxidative Stress and Growth Factors in Skin Aging.</i>	Studi in vitro sel kulit dan jaringan, menilai efek antioksidan & <i>cytokine</i> (VEGF dan TNF- α) setelah terapi herbal.	Ekstrak calendula meningkatkan produksi VEGF dan menghambat sitokin inflamasi termasuk TNF- α . ¹³
Rohmani <i>et al.</i> (2024)	<i>Formulation and Activity of Sunscreen Cream from Ethanol</i>	Studi in vitro dan in vivo, menggunakan tikus Wistar jantan,	Ekstrak calendula 10% menunjukkan perlindungan tertinggi

<i>Extract of Calendula</i>	melihat waktu muncul	dengan menghambat
<i>Officinalis L Flowers</i>	eritema (MED) akibat	proses eritma, akibat
	paparan UV-B.	paparan UV-B ¹⁴

Yuan <i>et al.</i> <i>Role of Medicinal</i>	Studi in vitro dan in	Pemberian calendula
(2025) <i>Plants in Skin-related</i>	vivo pada tikus	menurunkan TNF- α
<i>Disorders and UV-B</i>	dengan paparan UV-	dan meningkatkan
<i>Damage.</i>	B dan pengobatan	vaskularisasi melalui
	herbal, termasuk VEGF. ¹⁵	
	calendula.	

Berdasarkan tabel 1.1 dapat disimpulkan bahwa ekstrak *Calendula officinalis* memiliki potensi terapi yang kuat sebagai agen topikal yang berperan dalam menekan inflamasi dan mendukung regenerasi jaringan kulit, khususnya pada model paparan sinar UV-B. Penelitian yang dilakukan oleh Silva *et al.* (2021) menggunakan model *in vivo* dan *in vitro* untuk mengevaluasi aktivitas antiinflamasi ekstrak bunga calendula., menunjukkan bahwa paparan UV-B meningkatkan ekspresi *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) dan TNF- α pada makrofag serta jaringan kulit, namun pemberian ekstrak calendula secara signifikan mampu menekan ekspresi sitokin inflamasi tersebut serta mempercepat proses penyembuhan luka kulit.¹¹

Penelitian oleh Lohani & Morganti (2022) menguji sediaan krim yang ditambahkan minyak essensial dari calendula dan geranium, menggunakan uji *in vivo* pada tikus Wistar albino yang dipapar sinar UV-B untuk melihat evaluasi menyeluruh dari efek perlindungan krim terhadap *photoaging*. Penelitian yang akan dilakukan menggunakan desain penelitian *in vivo*, menggunakan ekstrak calendula yang diformulasikan dalam bentuk sediaan

emulgel dan dilakukan analisis biomarker secara spesifik TNF- α dan VEGF.¹²

Penelitian oleh Qian *et al.* (2023) mengkaji mekanisme kerja antioksidan dalam menghambat penuaan kulit akibat stres oksidatif, termasuk akibat UV-B. Hasil studi menunjukkan bahwa pemberian agen herbal seperti Calendula mampu menstimulasi produksi VEGF dan menurunkan ekspresi sitokin inflamasi, termasuk TNF- α , menjadikan ekstrak ini efektif dalam terapi kulit regeneratif berbasis sel dan molekul bioaktif.¹³

Penelitian oleh Rohmani *et al.* (2024) menguji sediaan krim calendula konsentrasi 10% secara *in vitro* menunjukkan perlindungan terhadap UV secara maksimal dan studi *in vivo* nya menunjukkan perlindungan ekstra terhadap terbentuknya eritema akibat paparan UV-B. Sedangkan, penelitian yang akan dilakukan menggunakan sediaan emulgel calendula dengan konsentrasi 10% dan 20% secara *in vivo* yang diuji pada tikus Wistar dengan biomarker spesifik yaitu TNF- α dan VEGF.¹⁴

Penelitian eksperimental oleh Yuan *et al.* (2025) juga memperkuat temuan tersebut. Dalam studi *in vivo*, kulit tikus yang sebelumnya mengalami kerusakan akibat paparan UV-B menunjukkan penurunan ekspresi TNF- α dan peningkatan VEGF setelah aplikasi topikal berbasis ekstrak tanaman obat, termasuk calendula. Efek ini dikaitkan dengan kandungan senyawa aktif seperti flavonoid dan triterpenoid yang memiliki aktivitas antioksidan dan angiogenik.¹⁵

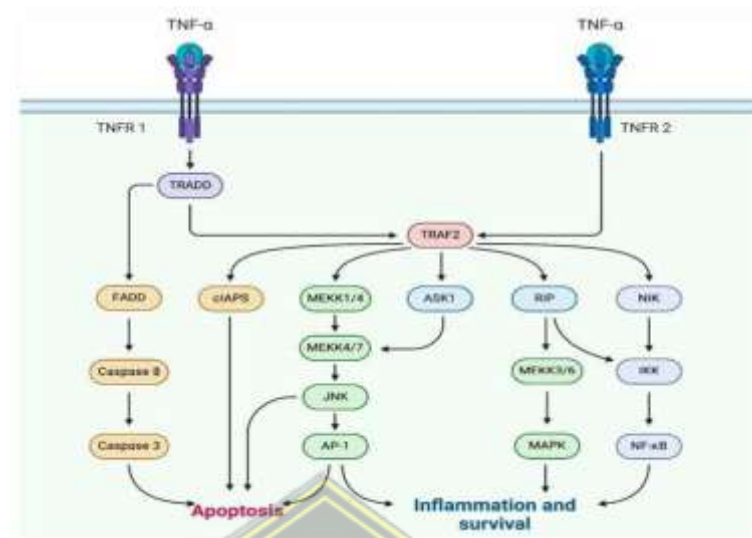
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

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

Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) merupakan sitokin yang memiliki efek pleiotropik pada berbagai jenis sel. Sitokin ini diidentifikasi sebagai pengatur utama respons inflamasi dan berperan dalam patogenesis sejumlah penyakit inflamasi maupun autoimun. Secara struktural, TNF- α berbentuk protein homotrimer yang tersusun atas 157 asam amino, dengan sebagian besar diproduksi oleh makrofag aktif, limfosit T, dan sel pembunuh alami. Secara fungsional, TNF- α mampu memicu pelepasan berbagai molekul inflamasi, termasuk sitokin dan kemokin lain. *TNF- α transmembran* (tmTNF- α) merupakan bentuk prekursor yang awalnya disintesis dan kemudian diproses oleh enzim pengubah TNF- α (TACE), yaitu metaloproteinase disintegrin yang terikat membran, untuk dilepaskan menjadi TNF- α terlarut (sTNF- α). Bentuk sTNF- α tersebut kemudian memfasilitasi berbagai aktivitas biologis melalui reseptor TNF- α . Peradangan yang dipicu oleh TNF- α dapat mengakibatkan kerusakan jaringan dan disfungsi organ..¹⁶

Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) berperan penting dalam mengatur respons imun dan proses peradangan pada tubuh manusia. Dalam kondisi normal, TNF- α diproduksi oleh berbagai jenis sel, terutama makrofag dan limfosit T, sebagai respons terhadap infeksi, kerusakan jaringan, atau rangsangan inflamasi. Peran utama TNF- α adalah sebagai mediator dalam aktivasi respons peradangan, memicu pelepasan sitokin lain seperti *interleukin-1* (IL-1) dan *interleukin-6* (IL-6), merangsang ekspresi molekul adhesi..¹⁶



Gambar 2.1 Jalur Pensinyalan TNF- α ¹⁷

Jalur sinyal yang diaktivasi oleh sitokin *Tumor Necrosis Factor- alpha* (TNF- α) pada (Gambar 2.1) melalui dua reseptornya, yaitu reseptor faktor nekrosis tumor 1 (TNFR1) dan reseptor faktor nekrosis tumor 2 (TNFR2), memiliki peran penting dalam proses apoptosis, inflamasi, dan kelangsungan hidup sel. Aktivasi TNFR1 oleh TNF- α memicu pembentukan protein adaptor TNF Receptor Associated Death Domain (TRADD), yang dapat mengaktifkan dua jalur utama. Jalur pertama adalah jalur apoptosis, di mana TRADD memicu *Fas- Associated Death Domain* (FADD) yang mengaktifkan *caspase-8*, kemudian memproses *caspase-3* sebagai eksekutor apoptosis, menyebabkan kematian sel terprogram. Jalur kedua adalah jalur pro-survival, di mana TRADD membentuk *cellular Inhibitor of Apoptosis Proteins* (cIAPs) yang berfungsi untuk mencegah apoptosis. TRADD juga mengaktivasi TNF Receptor-Associated Factor 2 (TRAF2), adaptor kunci yang menghubungkan TNFR1 dan TNFR2 dengan jalur hilir.¹⁸

TRAF2 memainkan peran penting dalam mengaktifkan berbagai jalur sinyal inflamasi dan kelangsungan hidup. Melalui aktivasi MEK1/4 dan MEKK4/7, TRAF2 mengaktifkan protein kinase JNK, yang kemudian mengaktifasi faktor transkripsi AP-1 untuk mengatur ekspresi gen inflamasi. TRAF2 mengaktifkan *Apoptosis Signal-Regulating Kinase 1* (ASK1) untuk memicu respons inflamasi, serta *Receptor-Interacting Protein* (RIP) melalui MEKK3/6, yang mengaktifkan *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK) untuk mendukung kelangsungan hidup sel. TRAF2 juga mengaktifasi *NF- κ B-Inducing Kinase* (NIK), yang merangsang kompleks *I κ B Kinase* (IKK) untuk mengaktifkan faktor transkripsi NF- κ B, yang berperan dalam ekspresi gen pro-inflamasi dan pro-survival.¹⁸

TNFR2 secara langsung mengaktifasi TRAF2 tanpa melibatkan TRADD, sehingga lebih berfokus pada inflamasi dan kelangsungan hidup sel melalui aktivasi MAPK dan NF- κ B. Namun, TNFR2 tidak berperan langsung dalam proses apoptosis seperti TNFR1. Jalur sinyal ini menunjukkan peran dualistik TNF- α dalam mengatur apoptosis melalui TNFR1 dan inflamasi serta kelangsungan hidup sel melalui kedua reseptor. Jalur ini sangat relevan dalam berbagai kondisi patologis seperti inflamasi kronis, kanker, dan penyakit autoimun.¹⁸

Menurut penelitian terdahulu, kadar TNF- α yang tidak seimbang dapat menjadi faktor risiko dan terlibat dalam berbagai kondisi penyakit. Kelebihan TNF- α berkaitan dengan penyakit peradangan kronis, seperti *arthritis rheumatoid*, penyakit radang usus, dan psoriasis.¹⁹

TNF- α juga terlibat dalam mekanisme patofisiologi penyakit autoimun sehingga penghambatan aktivitas TNF- α menjadi target dalam pengobatan beberapa penyakit autoimun seperti *arthritis rheumatoid* dan penyakit radang usus kronis. Terapi anti-TNF telah digunakan untuk mengurangi gejala dan memperlambat perkembangan penyakit ini dengan mengurangi peradangan dan kerusakan jaringan.²⁰ Protein ini juga dilaporkan mempengaruhi beberapa kondisi kanker, seperti memicu proliferasi sel tumor, angiogenesis, serta resistensi terhadap apoptosis.²¹

2.1.1 Peran TNF- α dalam photoaging

Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) memainkan peran penting dalam proses *photoaging* yang disebabkan oleh paparan sinar UV. Paparan sinar UV menginduksi produksi TNF- α dalam kulit, memicu respons peradangan yang menyebabkan kerusakan struktural dan klinis pada kulit. Proses ini mengakibatkan kehilangan elastisitas dan kekencangan kulit serta pembentukan garis halus dan kerutan pada kulit, ciri khas dari *photoaging*. TNF- α juga memicu produksi radikal bebas dan stres oksidatif dalam kulit, yang berkontribusi pada kerusakan seluler dan percepatan proses penuaan kulit.²²

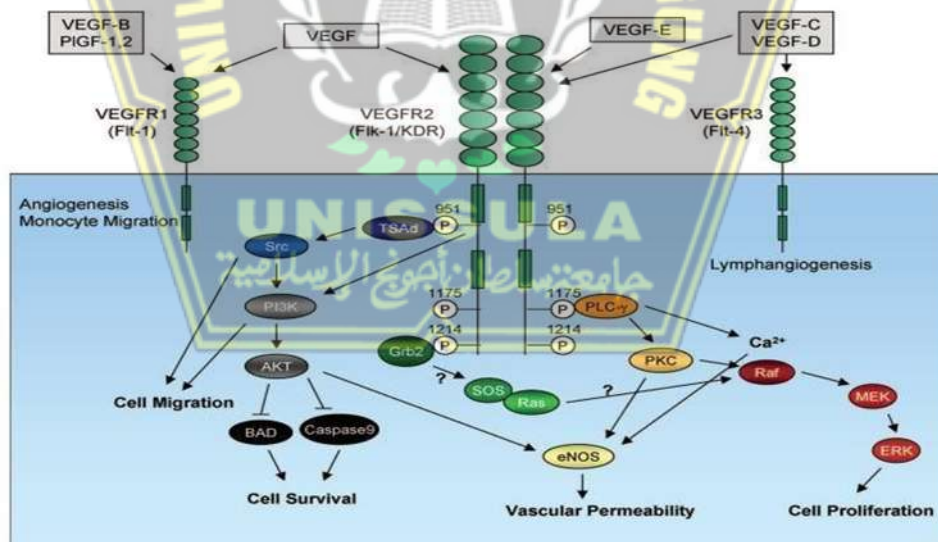
2.1.2 Metode Analisis TNF- α

Analisis TNF- α merupakan aspek penting untuk yang berperan serta pada respons seluler dan molekuler dalam berbagai kondisi seperti peradangan, penyakit autoimun, dan kanker. Beberapa metode yang sering digunakan untuk analisis ini meliputi *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), *Western Blotting* (WB), *Flow Cytometry*, *Polymerase Chain Reaction* (PCR), serta teknik pewarnaan (*staining*).²³

Metode ELISA memanfaatkan interaksi antara TNF- α dengan antibodi spesifik yang terikat pada permukaan plat ELISA. Proses deteksi dilakukan menggunakan enzim yang menghasilkan sinyal, yang kemudian diukur menggunakan spektrofotometer. ELISA mampu mendeteksi dan mengukur kadar TNF- α dalam sampel.²⁴

2.2 VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*)

Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) merupakan protein yang berperan penting dalam proses angiogenesis, yaitu pembentukan pembuluh darah baru dari pembuluh darah yang telah ada. VEGF juga berperan dalam berbagai proses fisiologis yang mendukung pertumbuhan, pemeliharaan, dan perbaikan jaringan.



Gambar 2.2 Jalur Transduksi VEGF²⁵

Jalur transduksi VEGF pada (Gambar 2.2) yang terdiri dari VEGF, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, dan PlGF mengikat tiga tirosin kinase VEGFR, yang mengakibatkan dimerisasi, autofosforilasi reseptor, dan aktivasi jalur transduksi sinyal hilir. Pengikatan ligan ke VEGFR2 mengaktifkan molekul transduksi sinyal fosfolipase C--(PLC--), PI3K, Akt, Ras, Src, dan MAPK dan mengatur proliferasi sel, migrasi, kelangsungan hidup, dan permeabilitas vaskular.²⁵

2.2.1 Fungsi Utama VEGF

1. Angiogenesis

VEGF adalah faktor utama yang merangsang pembentukan pembuluh darah baru. VEGF mengaktifkan sel-sel endotel (sel lapisan dalam pembuluh darah) untuk membelah dan membentuk struktur pembuluh darah baru.

2. Permeabilitas Pembuluh Darah

VEGF meningkatkan permeabilitas pembuluh darah, yang memungkinkan sel-sel darah dan molekul-molekul besar seperti protein dan sel-sel imun untuk masuk ke dalam jaringan yang sedang meradang atau dalam proses penyembuhan.

3. Penyembuhan Luka

VEGF mendukung penyembuhan luka dengan merangsang pembentukan pembuluh darah baru di daerah yang terluka, meningkatkan suplai darah, dan menyediakan oksigen serta nutrisi yang dibutuhkan untuk pemulihan.

4. Regulasi Hipoksia

Dalam kondisi hipoksia, VEGF dilepaskan oleh sel-sel yang kekurangan oksigen dan merangsang angiogenesis untuk memperbaiki aliran darah dan meningkatkan pasokan oksigen ke jaringan yang terpengaruh.

5. Pemeliharaan Pembuluh Darah

VEGF juga berperan dalam pemeliharaan dan perbaikan pembuluh darah yang sudah ada, meningkatkan ketahanan dan fungsi sel endotelium.²⁶

2.2.2 Mekanisme Aksi VEGF

VEGF bekerja dengan mengikat reseptor yang ada pada permukaan sel endotelium pembuluh darah. Ada beberapa isoform VEGF yang berbeda, yang paling umum adalah VEGF-A, yang berperan utama dalam angiogenesis. VEGF-A mengikat VEGFR-2 (reseptor VEGF tipe 2) yang terletak pada sel endotelium, dan mengaktifkan berbagai jalur sinyal yang memicu pembentukan pembuluh darah baru.¹⁷

2.2.3 Jalur Sinyal Utama VEGF

1. Jalur PI3K-Akt

Jalur ini terlibat dalam pengaturan kelangsungan hidup sel dan proliferasi sel endotelium. Aktivasi jalur ini mencegah apoptosis (kematian sel) dan memungkinkan sel untuk berkembang biak dan membentuk pembuluh darah baru.

2. Jalur MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*)

Jalur ini berperan dalam pengaturan proliferasi sel endotelium dan migrasi sel-sel tersebut ke lokasi pembentukan pembuluh darah baru.

3. Jalur PLC- γ (*Phospholipase C-gamma*)

Jalur ini membantu dalam pengaturan pergerakan sel dan pembentukan struktur pembuluh darah melalui aktivasi beberapa protein pengatur struktur sel.²⁶

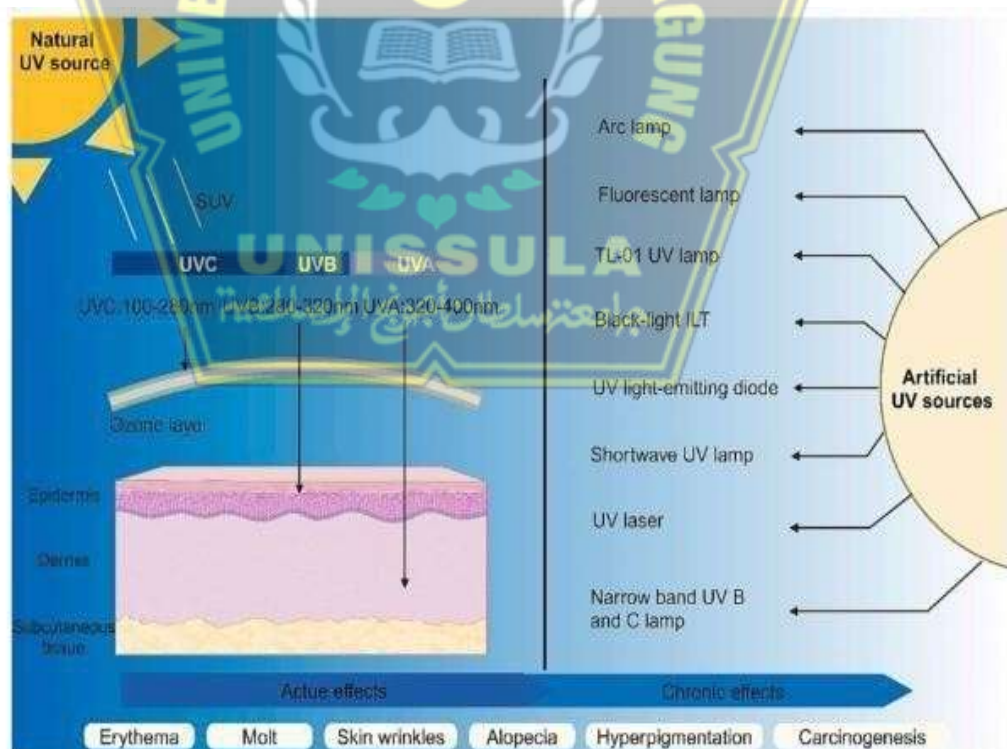
2.2.4 Metode Analisis VEGF

Analisis protein VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) dapat dilakukan dengan menggunakan sejumlah metode, seperti *Western Blot (WB)*, *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*, *Staining Immunohistochemistry* atau pun *Immunofluorescence* dan PCR yang masing-masing metode memiliki kelebihan dan kekurangan. Misalnya, WB sangat spesifik untuk analisis protein dengan ukuran tertentu, ELISA memungkinkan kuantifikasi protein dengan sensitivitas tinggi, *Immunohistochemistry* dan *Immunofluorescence* berguna untuk visualisasi langsung dalam jaringan, PCR cocok untuk menganalisis ekspresi gen VEGF pada level RNA. ELISA merupakan metode yang paling umum digunakan karena memiliki tingkat kecepatan dan kapasitas analisis dalam skala besar.

Metode ini memiliki sensitivitas yang baik sehingga memungkinkan deteksi dan pengukuran konsentrasi VEGF, namun, tidak mampu membedakan antara isoform VEGF yang berbeda dan rentan terhadap faktor - faktor yang memengaruhi interaksi antara antibodi dan antigen.²⁴

2.3 Sinar UV

Sinar ultraviolet (UV) memiliki panjang gelombang lebih pendek dibandingkan cahaya tampak dan terbagi menjadi tiga jenis (Gambar 2.3). Sinar UVA sebagian besar diserap namun tetap dapat mencapai permukaan bumi (320-400 nm). Sinar UVB sebagian besar diserap oleh lapisan ozon, gas, dan uap air di atmosfer (290-320 nm). Sinar UVC sepenuhnya tertahan di lapisan ozon (10-290 nm).²⁷



Gambar 2.3 Panjang Sinar Ultraviolet Menembus Lapisan Kulit²⁷

Sinar UV berperan penting dalam metabolisme tubuh, terutama dalam mendukung sintesis vitamin D yang berfungsi meningkatkan sistem kekebalan. Namun, paparan sinar UV berlebihan dapat menimbulkan berbagai masalah kesehatan, seperti kulit terbakar (*sunburn*), penuaan kulit dini (*photoaging*), penurunan fungsi imun (*imunosupresi*), serta peningkatan risiko kanker kulit (*fotokarsinogenesis*).²⁷

2.3.1 *Photoaging*

Paparan sinar UV dari matahari yang terjadi secara berulang merupakan salah satu faktor lingkungan utama yang dapat mempercepat penuaan kulit dan menyebabkan kerusakan progresif pada fungsi sel induk epidermis. Radiasi UV merangsang produksi spesies oksigen reaktif (ROS), molekul tidak stabil yang merusak komponen penting kulit, termasuk DNA, protein, dan lipid. Proses ini menyebabkan oksidasi yang mengganggu fungsi sel, mempercepat pemendekan telomer, dan menginduksi stres oksidatif yang meluas. Polutan lingkungan juga dapat mengaktifkan reseptor AhR (*aryl hydrocarbon receptor*), memperburuk stres oksidatif dan memicu perubahan warna kulit akibat peningkatan produksi pigmen (*melanogenesis*).²⁸

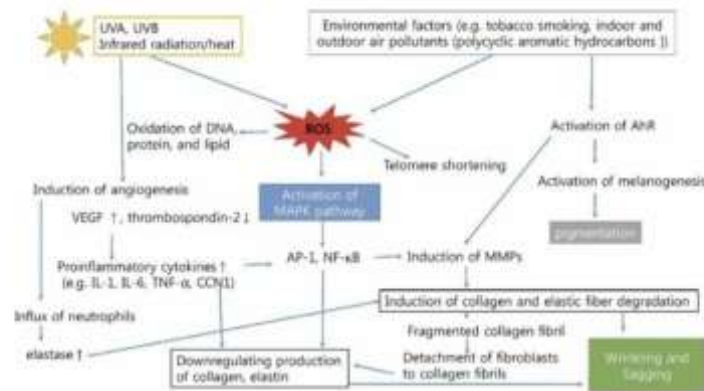


Figure 1 The pathogenesis of premature/extrinsic aging of the skin.⁷ Reprinted from Kim H, Hyun Jeong, Park. Molecular mechanisms of skin aging and rejuvenation. In: Shiomi H, editor. Molecular Mechanisms of the Aging Process and Rejuvenation. London: IntechOpen; 2016:57–76. © 2016 The Author(s). Licensee IntechOpen. This chapter is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 3.0 License.
Abbreviations: ROS, reactive oxygen species; AhR, arylhydrocarbon receptor; NF-κB, nuclear factor kappa-B; IL, interleukin; TNF-α, tumor necrosis factor; CCN1, cysteine-rich protein 61; MAPK, mitogen-activated protein kinase; AP-1, activator protein 1; MMPs, matrix metalloproteinases; ROS, reactive oxygen species; UV, ultraviolet; VEGF, vascular endothelial growth factor.

Gambar 2.4 Skema photoaging²⁹

Mekanisme terjadinya *photoaging* pada (Gambar 2.4) diawali dengan ROS yang mengaktifkan berbagai jalur molekuler, termasuk pemendekan telomer (mempercepat penuaan sel), aktivasi jalur MAPK mengaktifkan faktor transkripsi seperti AP-1 dan NF-κB, serta induksi *resptor aryl hydrocarbon* (AhR) memicu menogenesis dan menyebabkan pigmentasi kulit. Aktivasi AP-1 dan NF-κB meningkatkan produksi sitokin proinflamasi, seperti IL-1, IL-6, TNF-α, dan CCN1, yang memicu infiltrasi neutrofil serta pelepasan elastase, sehingga mengurangi produksi kolagen dan elastin. Proses inflamasi juga menginduksi ekspresi *vascular endothelial growth factor* (VEGF) yang merangsang pembentukan pembuluh darah baru (*angiogenesis*) secara abnormal dan rapuh, sehingga memperparah kerusakan jaringan. Di sisi lain, ROS juga memutus hubungan antara fibroblas dan kolagen fibril, yang semakin mengurangi kemampuan kulit untuk memperbaiki diri. Hal ini menyebabkan fragmentasi kolagen,

penurunan produksi elastin, dan perubahan besar dalam matriks ekstraseluler (ECM).²⁹

Kerusakan yang terus-menerus ini menyebabkan berbagai tanda penuaan kulit, seperti kerutan, kulit kendur, dan hiperpigmentasi. Kulit kehilangan elastisitas dan kekuatannya karena kolagen dan elastin, dua protein utama dermis, mengalami degradasi terus-menerus tanpa penggantian yang memadai. Kombinasi proses oksidasi, peradangan kronis, degradasi ECM, dan disregulasi angiogenesis menciptakan kondisi ideal untuk kerusakan kulit yang progresif.³⁰

Pemahaman tentang mekanisme ini penting untuk mengembangkan strategi perlindungan kulit, seperti penggunaan antioksidan untuk menetralkan ROS, bahan anti-inflamasi untuk menghambat jalur NF- κ B, dan agen topikal untuk mendukung regenerasi ECM. Pendekatan ini dapat membantu memperlambat kerusakan akibat radiasi UV dan menjaga kesehatan kulit.²⁹

2.3.2 Pengaruh Paparan Sinar UV terhadap Kulit

Paparan sinar ultraviolet (UV) dapat menyebabkan berbagai efek pada kulit, tergantung pada intensitas dan durasi paparan. Efek yang ditimbulkan diantaranya.³¹

1. Kerusakan Sel Kulit

Sinar UV menyebabkan kerusakan pada DNA sel kulit, yang dapat mengakibatkan mutasi genetik. Dampak yang ditimbulkan seperti kanker kulit, termasuk karsinoma sel basal, karsinoma sel skuamosa, dan melanoma.

2. Penuaan Dini

Sinar UV-A mampu menembus lapisan dermis kulit, merusak serat kolagen dan elastin. Menyebabkan hilangnya elastisitas kulit, munculnya kerutan, serta perubahan warna kulit (hiperpigmentasi).

3. Peradangan dan Eritema (Kulit Kemerahan)

Paparan UV-B memicu peradangan kulit dan menyebabkan kulit menjadi merah atau terbakar (*sunburn*). UV-B juga meningkatkan produksi sitokin pro-inflamasi yang memperburuk kerusakan.

4. Pembentukan Pigmen (Melanin)

Melanosit di kulit akan menghasilkan melanin sebagai respons terhadap paparan UV. Pertahanan alami tubuh untuk menyerap radiasi UV dan melindungi DNA sel. Namun, produksi melanin yang berlebihan dapat menyebabkan bintik hitam atau pigmentasi tidak merata.

5. Imunosupresi Lokal

Paparan UV dapat menekan respons imun lokal pada kulit, membuat kulit lebih rentan terhadap infeksi dan gangguan imun.²⁹

2.4 *Calendula Officinalis. L*

Calendula officinalis L., atau dikenal sebagai pot marigold, merupakan tanaman yang berasal dari daerah Mediterania. Tanaman ini dapat tumbuh hingga 61 cm, dengan panjang daun berkisar 5–15 cm dan diameter bunga mencapai 10 cm. Bunga ini cukup unik, karena dalam satu tanaman terdapat dua warna berbeda pada bunganya, yaitu jingga dan kuning dan mekar pada musim panas.³² *Calendula officinalis. L* adalah tanaman kebun yang umum digunakan secara medis di Eropa, Cina, Amerika Serikat, dan India.



Gambar 2.5 Bunga Calendula (*Calendula Officinalis. L*)³³

Tanaman *Calendula officinalis. L* memiliki taksonomi sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Superdivisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: <i>Asterida</i>
Ordo	: <i>Asterales</i>
Famili	: <i>Asteraceae</i>
Genus	: <i>Calendula</i>
Spesies	: <i>Calendula officinalis. L</i>

Keluarga Asteraceae memiliki berbagai nama umum, antara lain *African Marigold*, *Calendula*, *Common Marigold*, *Garden Marigold*, *Marigold*, *Pot Marigold*, *Zergul* di India, *Butterblume* di Jerman, *Chin Chan Ts'ao* di Tiongkok, *Galbinele* di Rumania, dan *Ringblomma* di Swedia. *Calendula* tumbuh setinggi 60 cm dan menghasilkan bunga kuning atau oranye besar. Digunakan secara topikal sebagai obat anti-inflamasi alami dan untuk penyembuhan luka dan ulser kaki.³²

2.4.1 Senyawa Aktif Calendula

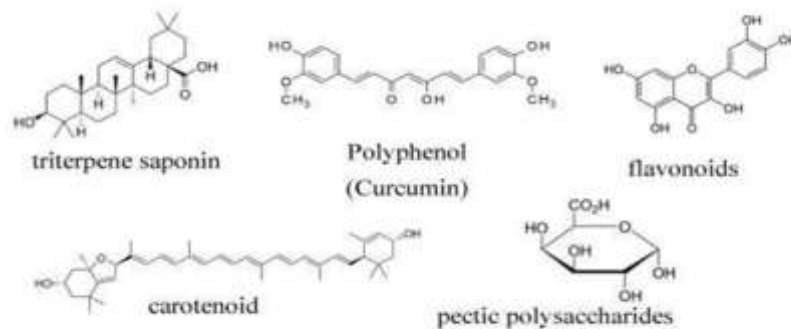


Fig. 1. Structure of key active compounds found in calendula.

Gambar 2.6 Struktur Calendula³⁴

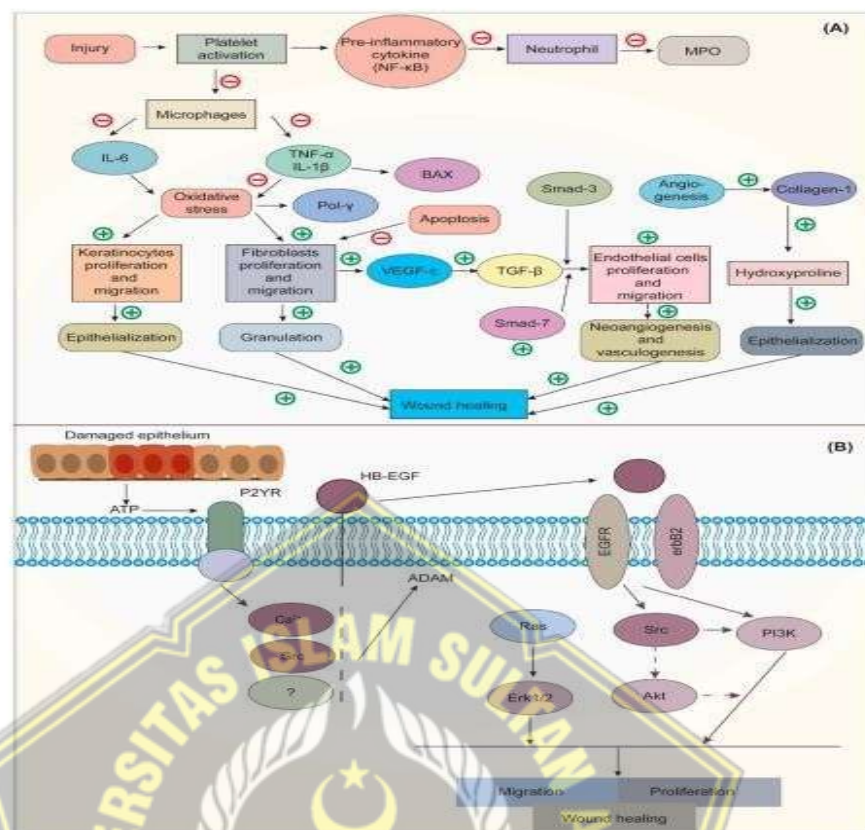
1. Triterpenoid merupakan kelompok alami utamanya (alkohol triterpen, dan saponin triterpen), polifenol (asam fenolik dan flavonoid), karotenoid, dan polisakarida merupakan senyawa aktif utama dalam calendula digunakan sebagai Anti-inflamasi kuat, membantu meredakan peradangan pada kulit.
2. Polifenol 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 merupakan senyawa dengan cincin aromatik yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil terikat. Flavonoid memiliki kerangka flavon yang tersusun atas dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh jembatan tiga karbon.³⁴

2.5 *Calendula officinalis*. L sebagai Agen Anti-Inflamasi

Calendula officinalis L. memiliki berbagai sifat farmakologis dan dipercaya bermanfaat untuk mengurangi peradangan, mempercepat penyembuhan luka, serta bertindak sebagai antiseptik. Secara internal, tanaman ini digunakan untuk mengatasi sakit maag dan peradangan. Kandungan flavonoid dalam jumlah tinggi pada *Calendula officinalis* L. berperan dalam aktivitas antiinflamasi, bersama dengan saponin dan triterpen. Tanaman ini juga mengandung karotenoid yang memiliki fungsi tambahan. *Calendula officinalis* L., yang dikenal sebagai marigold, telah lama digunakan secara tradisional dalam pengobatan herbal untuk mengatasi berbagai kondisi inflamasi.³⁴

Tanaman ini kaya akan senyawa bioaktif termasuk flavonoid, triterpenoid, saponin, dan karotenoid, yang berkontribusi pada sifat anti-inflamasi dan penyembuhannya. Ekstrak *Calendula officinalis*. L dikenal luas karena khasiatnya dalam penyembuhan luka, anti-inflamasi, dan antioksidan. Kandungan flavonoid dan saponin di dalamnya membantu menekan produksi mediator inflamasi seperti TNF- α dan IL-6. Penelitian menunjukkan bahwa *Calendula* dapat menurunkan stres oksidatif serta mempercepat regenerasi kulit yang rusak.³⁴

Pada (Gambar 2.7) menunjukkan mekanisme kerja *Calendula officinalis*. L dalam mengurangi inflamasi melibatkan beberapa jalur biokimia dan mekanisme aksi yang digunakan dalam penyembuhan luka.



Gambar 2.7 Jalur dan Mekanisme Calendula³⁴

Banyak penelitian telah menunjukkan efektivitas *Calendula officinalis*.

L dalam mengatasi berbagai kondisi inflamasi:

1. Studi In Vitro: Penelitian di laboratorium menunjukkan bahwa ekstrak Calendula memiliki aktivitas anti-inflamasi yang signifikan. Salah satu studi menemukan bahwa ekstrak etanol Calendula dapat mengurangi produksi sitokin inflamasi pada kultur sel.
2. Studi In Vivo: Penelitian pada hewan percobaan menunjukkan bahwa pemberian ekstrak Calendula dapat mengurangi pembengkakan dan nyeri akibat inflamasi. Misalnya, penggunaan salep berbahan dasar Calendula pada luka bakar menunjukkan pengurangan inflamasi dan waktu penyembuhan yang lebih cepat.

3. Uji Klinis: Beberapa uji klinis melaporkan bahwa penggunaan salep Calendula efektif dalam mengobati dermatitis, luka, dan iritasi kulit lainnya. Hasilnya menunjukkan bahwa pasien yang menggunakan salep Calendula mengalami penurunan gejala inflamasi dibandingkan dengan kelompok kontrol.³⁵

2.6 Penggunaan Emulgel Berbasis Ekstrak Calendula dalam Pengobatan Kerusakan Kulit

Emulgel berbasis ekstrak calendula telah banyak digunakan dalam pengobatan kulit untuk kerusakan kulit akibat paparan sinar matahari. Emulgel topikal dari bahan alami seperti calendula memberikan efek perlindungan kulit melalui pengaturan sitokin pro-inflamasi. Formula emulgel ini juga meningkatkan penetrasi bahan aktif ke dalam lapisan epidermis dan dermis, mempercepat proses penyembuhan kulit. Emulgel yang mengandung ekstrak calendula sering kali diformulasikan dengan bahan tambahan yang meningkatkan efektivitasnya, seperti *aloe vera*, vitamin E, atau bahan pelembap lainnya. Konsistensi emulgel yang ringan membuatnya mudah meresap dan tidak lengket saat digunakan. Adapun manfaat calendula sebagai berikut:³⁴

1. Anti-inflamasi: Calendula memiliki sifat yang mampu membantu meredakan kemerahan dan peradangan pada kulit (*photodamaged*).
2. Menyembuhkan Luka: Calendula dapat mempercepat proses penyembuhan luka dan regenerasi kulit, membantu mengatasi kerusakan akibat sinar UV.
3. Antimikroba: Kandungan antimikroba dalam Calendula dapat membantu mencegah infeksi pada kulit yang rusak.

2.7 Efek Sinar UV terhadap TNF- α dan VEGF

Paparan sinar UV pada kulit memiliki dampak yang signifikan terhadap regulasi sitokin dan faktor pertumbuhan, termasuk TNF- α dan VEGF.³⁶ Radiasi UV dapat memicu reaksi inflamasi kompleks pada kulit yang ditandai dengan peningkatan kadar TNF- α , yaitu sitokin proinflamasi yang berperan dalam merangsang respons imun. Namun, kadar TNF- α yang berlebihan dapat memicu peradangan kronis dan menimbulkan berbagai gangguan kulit. Protein ini merangsang produksi enzim MMP, khususnya MMP-1, yang berfungsi mendegradasi kolagen sebagai protein struktural utama kulit. Akibatnya, kulit kehilangan elastisitas dan kekencangan sehingga terbentuk kerutan, yang merupakan ciri khas *photoaging*. TNF- α juga memicu produksi radikal bebas dan stres oksidatif pada kulit, yang berkontribusi terhadap kerusakan seluler serta mempercepat proses penuaan kulit.³⁸

Radiasi UV juga dapat mengatur kadar VEGF, faktor pertumbuhan yang esensial untuk angiogenesis atau pembentukan pembuluh darah baru. Peningkatan kadar VEGF merupakan respons adaptif terhadap kerusakan kulit yang disebabkan oleh sinar UV, dengan tujuan untuk memulihkan pasokan darah dan nutrisi ke area yang terkena. Namun, regulasi yang tidak seimbang dari VEGF dapat menyebabkan angiogenesis yang berlebihan, yang pada gilirannya dapat terlibat dalam pembentukan kondisi patologis, seperti karsinogenesis atau penyakit kulit yang berkaitan dengan vaskularisasi berlebihan.³⁹

Ketika aliran darah berkurang, kulit kehilangan pasokan nutrisi dan oksigen yang penting bagi regenerasi sel serta produksi kolagen dan elastin. Kolagen dan elastin merupakan struktur utama yang menjaga kekencangan dan elastisitas kulit. Kekurangan nutrisi dan oksigen akibat penurunan produksi VEGF akibat paparan UV-B menyebabkan kulit kehilangan kemampuannya untuk memperbaiki diri dengan baik, menyebabkan munculnya kerutan pada kulit.³⁹



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori

Paparan sinar UV memicu peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS), yaitu molekul radikal bebas yang dapat merusak jaringan kulit. Peningkatan ROS ini mengaktifkan jalur inflamasi melalui ekspresi NF- κ B, faktor transkripsi utama yang merangsang produksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , serta menyebabkan kerusakan DNA. Kerusakan DNA akibat ROS akan memicu pelepasan *damage-associated molecular patterns* (DAMP) yang berperan dalam aktivasi sistem imun bawaan. Bersamaan dengan itu, jalur *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) juga diaktifkan sebagai respons terhadap stres oksidatif. Aktivasi MAPK melibatkan protein-protein seperti ERK, JNK, dan p38 yang kemudian memediasi ekspresi gen inflamasi dan apoptosis.

Pada tahap inflamasi, aktivasi NF- κ B meningkatkan kadar TNF- α yang memengaruhi fase inflamasi awal. Peningkatan TNF- α berperan penting dalam mengaktifkan *matrix metalloproteinases* (MMPs) melalui jalur NF- κ B dan MAPK/AP-1, yang kemudian mendegradasi kolagen dan elastin dermal. Degradasi matriks ekstraseluler ini mempercepat hilangnya elastisitas kulit, pembentukan kerutan, serta perubahan struktur jaringan, sehingga TNF- α bukan hanya sekadar mediator inflamasi, tetapi juga salah satu faktor utama dalam patogenesis *photoaging*. Sebaliknya, VEGF merupakan mediator utama dalam angiogenesis yang mendukung regenerasi jaringan pascakerusakan.

Namun, paparan UV-B diketahui dapat menekan ekspresi VEGF melalui dua mekanisme utama: pertama, peningkatan radikal bebas (*reactive oxygen species*, ROS) yang mengganggu stabilitas *hypoxia-inducible factor-1 α* (HIF-1 α), sehingga mengurangi induksi VEGF; kedua, dominasi jalur NF- κ B yang memprioritaskan ekspresi sitokin inflamasi dibandingkan faktor angiogenik. Akibatnya, meskipun TNF- α meningkat sebagai respons inflamasi akut, VEGF justru menurun yang menandakan adanya ketidakseimbangan antara sinyal inflamasi dan regeneratif dalam jaringan kulit.

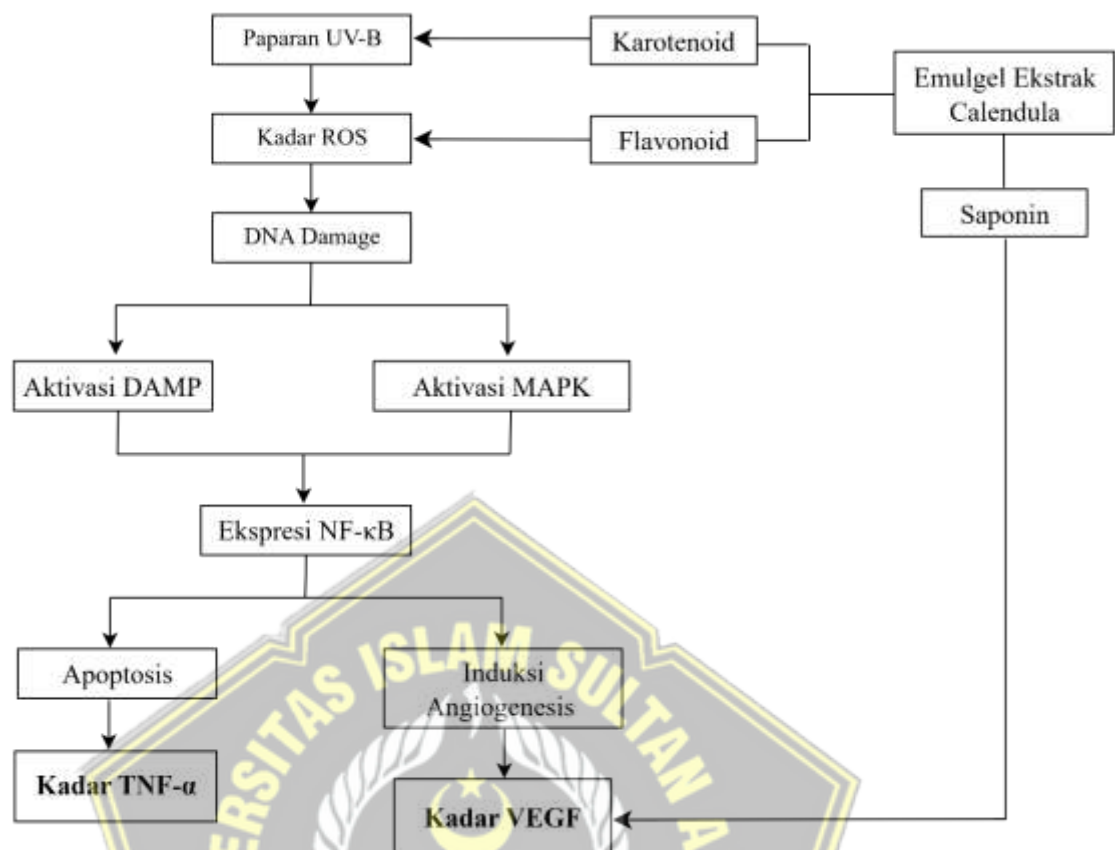
Ketidakseimbangan antara TNF- α dan VEGF berimplikasi langsung terhadap proses *photoaging*. TNF- α yang tinggi memperburuk inflamasi dan mempercepat degradasi matriks ekstraseluler melalui induksi MMPs. Di sisi lain, rendahnya VEGF menghambat regenerasi vaskular yang diperlukan untuk suplai oksigen dan nutrisi pada jaringan kulit. Kombinasi ini menjadikan kulit lebih rentan terhadap kerusakan kronis, hilangnya elastisitas, dan munculnya tanda-tanda penuaan dini akibat paparan UV-B. Angiogenesis patologis juga menghasilkan pembuluh darah abnormal yang rapuh dan meningkatkan risiko edema jaringan serta gangguan aliran darah, yang menghambat penyembuhan luka.

Upaya pencegahan untuk menghentikan siklus yang terjadi, emulgel ekstrak *Calendula officinalis*. L menawarkan solusi alami dengan kandungan bioaktif yang meliputi flavonoid, karotenoid, dan saponin triterpenoid. Flavonoid seperti quercetin dan kaempferol dalam calendula berperan utama dalam mengurangi efek inflamasi dan oksidatif. Sebagai antioksidan kuat, flavonoid menetralkan ROS, sehingga mencegah aktivasi jalur NF- κ B. Dengan menghambat NF- κ B, flavonoid secara langsung dapat menurunkan produksi

TNF- α , yang kemudian mengurangi inflamasi dan melindungi jaringan kulit dari kerusakan lebih lanjut. Flavonoid juga membantu menstabilkan ECM dengan mengurangi aktivitas enzim proteolitik seperti MMP.

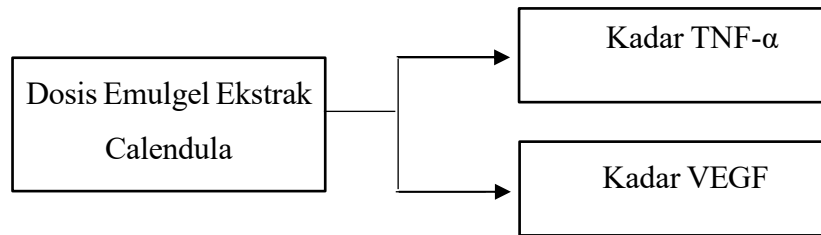
Karotenoid, seperti lutein dan zeaxanthin, berfungsi melindungi membran sel dari peroksidasi lipid dan menstabilkan HIF-1 α , yang pada akhirnya meningkatkan ekspresi VEGF. Sebagai antioksidan, karotenoid juga melindungi lipid membran dan ECM dari peroksidasi lipid yang disebabkan oleh ROS, menjaga integritas seluler. Saponin diketahui memiliki efek imunomodulator yang menekan inflamasi sekaligus mendukung angiogenesis. Dengan demikian, emulgel ekstrak calendula dapat menekan kadar TNF- α sekaligus mempertahankan atau meningkatkan VEGF, sehingga berpotensi memperbaiki kerusakan kulit akibat paparan UV-B.

Calendula officinalis. L menunjukkan efek terapeutik yang kuat dalam menangani kerusakan kulit akibat UV dengan cara mengurangi inflamasi melalui regulasi TNF- α dan memperbaiki angiogenesis melalui kontrol VEGF. Dengan mengatasi kedua jalur utama ini, *Calendula officinalis. L* memberikan perlindungan, mempercepat pemulihan kulit, dan memperbaiki kondisi jaringan yang rusak, menjadikannya solusi alami yang efektif untuk inflamasi kulit dan angiogenesis patologis.



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 TNF- α dan VEGF pada tikus wistar jantan yang diinduksi sinar UV-B.

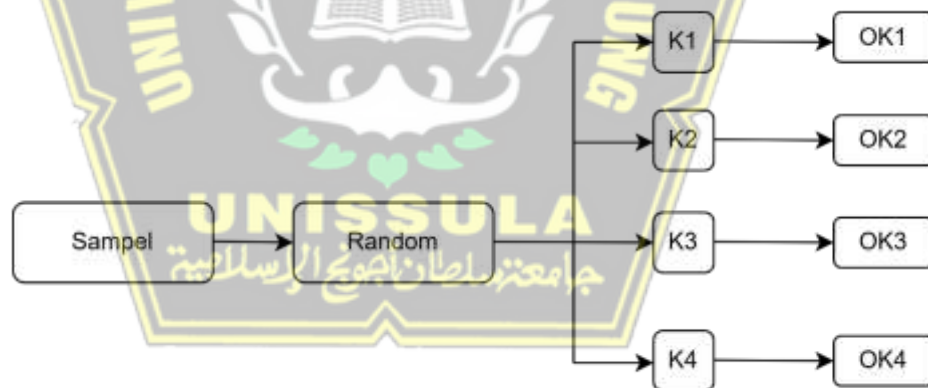


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan eksperimental in-vivo dengan pendekatan *post-test only control group design*. Model hewan tikus Wistar jantan digunakan untuk mengetahui efek pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis*. L terhadap kadar TNF- α dan VEGF pada tikus Wistar jantan yang diinduksi paparan sinar UV-B. Tikus dibagi menjadi 1 kelompok sehat, 1 kelompok kontrol negatif diberikan *base* emulgel sebagai pembanding, dan 2 kelompok perlakuan, di mana kelompok perlakuan menerima emulgel ekstrak calendula.



Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

1. K1: Tikus tidak di induksi UV-B, diberikan perlakuan pengolesan *base* emulgel.
2. K2: Tikus di induksi UV-B, diberikan pengolesan *base* emulgel.
3. K3: Tikus di induksi UV-B, diberikan perlakuan dengan pengolesan emulgel ekstrak calendula dengan konsentrasi 10%.

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

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah semua tikus Wistar jantan berusia 8-10 minggu dengan berat badan 150–200 gram dan dapat digunakan sebagai subjek untuk penelitian.

4.2.2 Sampel Penelitian

Menurut WHO, jumlah sampel minimal dalam setiap kelompok adalah 5 ekor, dengan tambahan 10% (1 ekor) sebagai cadangan. Sampel ditentukan dengan *simple random sampling* dan dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu 1 kelompok sehat, 1 kelompok kontrol, dan 2 kelompok perlakuan. Sampel minimal mengikuti kriteria federer yaitu sebanyak 6 ekor per-kelompok, dengan rumus:

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

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

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

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 15 + 3$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Di mana n adalah jumlah tikus per kelompok, dan t adalah jumlah kelompok (kontrol dan perlakuan). Jika terdapat 4 kelompok, maka minimal dibutuhkan 24 tikus, dengan 1 tikus cadangan untuk masing-masing kelompok, jadi total yang dibutuhkan adalah 28 tikus. Sampel dalam penelitian ini adalah tikus wistar jantan yang dibagi secara acak

menjadi beberapa kelompok dengan desain *post-test control group design*. Kelompok yang ada antara lain:

1. Kelompok Sehat: 6 tikus
2. Kelompok Kontrol Negatif: 6 tikus
3. Kelompok Perlakuan I (P1): 6 tikus.
4. Kelompok Perlakuan II (P2): 6 tikus.

a. Kriteria Inklusi

- Tikus berusia 8-10 minggu.
- Tikus dengan berat badan 150-200 g.
- Tikus dengan keadaan sehat dan aktif.

b. Kriteria Eksklusi

- Tikus yang mengalami luka atau kerusakan kulit sebelum perlakuan.

c. Kriteria Drop Out

- Tikus mengalami kematian selama periode perlakuan.

4.3 Variabel dan Definisi Operasional

4.3.1 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas: Pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis*. L
2. Variabel Tergantung: Kadar TNF- α dan VEGF.

4.3.2 Definisi Operasional

1. Pemberian Emulgel Ekstrak *Calendula officinalis* L.

Pemberian emulgel berbasis ekstrak *Calendula officinalis* L. dilakukan secara topikal pada kulit punggung tikus yang telah terpapar sinar UV-B. 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. Basis emulgel diperoleh dari PT. Derma Elok Farma yang diformulasikan dengan konsentrasi (10% dan 20%) dari ekstrak bunga Calendula. Emulgel diberikan sebanyak 1 kali (1 jam setelah paparan), selama 14 hari, dengan dosis 0,1 ml/cm² (1 gram per-ekor) yang dioleskan menggunakan spatula steril.⁴⁰

Satuan : mg (miligram)

Skala : Ordinal

2. Paparan Sinar UV-B

Paparan sinar UV-B adalah proses penyinaran kulit punggung tikus menggunakan lampu UV-B (panjang gelombang 302 nm) untuk mensimulasikan kerusakan kulit akibat *photodamaged* dengan ukuran luka ± 3 cm. Intensitas radiasi yang digunakan adalah 400 mJ/cm² dengan durasi penyinaran setiap hari selama 14 hari, pada jarak 8 cm. Setiap sesi penyinaran berlangsung selama 12 menit per hari.⁴¹

Satuan : mJ/cm² (Milijoule)

Skala : Ordinal

3. TNF- α (*Tumor Necrosis Factor- α*)

Kadar TNF- α digunakan sebagai penanda inflamasi dan diukur setelah menerima perlakuan emulgel ekstrak calendula. Analisis sampel dilakukan menggunakan metode ELISA di Laboratorium CITO Semarang. Efektivitas emulgel dievaluasi berdasarkan penurunan kadar TNF- α pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Sampel darah diambil dari orbita tikus menggunakan tabung mikrohematokrit.

Satuan : pg/mL (pikogram/mL)

Skala : Rasio

4. VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*)

VEGF digunakan sebagai indikator regenerasi jaringan dan angiogenesis, yang mencerminkan kemampuan kulit dalam membentuk kembali struktur vaskular pasca paparan atau cedera. Analisis sampel dilakukan menggunakan metode ELISA di Laboratorium CITO Semarang. Efektivitas emulgel dievaluasi berdasarkan penurunan kadar VEGF pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Sampel darah diambil dari orbita tikus menggunakan tabung mikrohematokrit.

Satuan : pg/mL (pikogram/mL)

Skala : Rasio

4.4 Bahan Penelitian

1. Hewan Uji: Tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dengan berat badan 150-200 gram dan usia 8-10 minggu.
2. Ekstrak Bunga *Calendula officinalis* L.: Ekstrak kering yang diperoleh melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol.
3. Emulgel Ekstrak Calendula: Emulgel topikal yang diformulasikan dengan ekstrak calendula yang dicampurkan dengan basis emulgel dari PT Derma Elok Farma Industri Kosmetik.
4. Placebo: Emulgel dengan formulasi yang identik namun tanpa ekstrak calendula.
5. Alat Penginduksi UV (Lampu UV): Lampu UV-B (290-320 nm) dengan dosis paparan yang dapat disesuaikan, digunakan untuk memberikan paparan sinar

UV pada kulit tikus guna menciptakan kondisi *photodamaged*.

6. Reagen ELISA: kit ELISA untuk mendukung TNF- α dan VEGF dalam sampel darah tikus.
7. Bahan Pendukung:
 - a. Etanol: Digunakan untuk menyiapkan ekstrak calendula.
 - b. Agarose: Digunakan untuk pembuatan kultur atau persiapan emulgel.
 - c. Buffer Fosfat (PBS): Digunakan untuk persiapan larutan pengencer dan pencucian sampel.
 - d. Makanan dan air: Pakan komersial standar untuk tikus dan air minum bebas kontaminasi, digunakan untuk menjaga kondisi fisik tikus selama penelitian.

4.5 Peralatan Penelitian

1. Peralatan Pembuakan Tikus: Kandang tikus, kandang plastik, ventilasi, alas litter, dan tempat makan minum digunakan untuk memelihara tikus selama penelitian, memastikan kondisi mereka tetap optimal dan bebas dari kontaminasi.
2. Alat Pengukur Paparan UV (UV Meter): Digunakan untuk mengukur intensitas dan dosis sinar UV yang diterima oleh kulit tikus.
3. Alat *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) *Reader*: Digunakan untuk mengukur absorbansi dalam uji ELISA.
4. Pipet dan Mikropipet: Pipet otomatis dan mikropipet volume kecil digunakan untuk pengambilan sampel.
5. Termometer dan Alat Pengatur Suhu: Digunakan untuk memantau suhu ruangan dan suhu tubuh tikus.

6. Alat Cukur dan Gunting: Termasuk gunting, pinset, dan pisau bedah yang digunakan dalam prosedur pengambilan sampel.

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 Persiapan Tikus Uji

Tikus jantan galur Wistar dengan berat badan 150 – 200 gram dan usia 8-10 minggu. Adaptasi: Tikus ditempatkan dalam kandang dengan ventilasi dan pencahayaan yang baik selama satu minggu di lingkungan laboratorium. Siklus pencahayaan 12 jam terang dan 12 jam gelap, suhu ruang 22-24°C, dan kelembapan 40-60%. Tikus dibagi menjadi beberapa kelompok sebagai berikut:

- a. Kelompok Tikus Sehat: 6 tikus, tidak dipapar UV dan diberikan *base emulgel* yang sudah diketahui memiliki efek penyembuhan atau perlindungan terhadap paparan UV.
- b. Kelompok Kontrol (KK): 6 tikus, dipapar UV dan diberikan *base emulgel* yang sudah diketahui memiliki efek penyembuhan atau perlindungan terhadap paparan UV.
- c. Kelompok Perlakuan I (P1): 6 tikus, diberi paparan UV dan perlakuan emulgel ekstrak *Calendula officinalis. L* dengan konsentrasi 10%.
- d. Kelompok Perlakuan II (P2): 6 tikus, diberi paparan UV dan perlakuan emulgel ekstrak *Calendula officinalis. L* dengan konsentrasi 20%.

4.6.3 Pembuatan Ekstrak *Calendula Officinalis. L*

Dalam penelitian ini digunakan ekstrak calendula yang diperoleh dari PT INBI Nusantara Sejahtera. Ekstrak ini diperoleh melalui metode ekstraksi berbasis standar industri, menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan bahan dan pelarut yang telah ditentukan secara akurat, serta dijalankan pada suhu dan waktu yang terkontrol guna menjaga stabilitas dan potensi senyawa aktif di dalamnya. Ekstrak calendula yang digunakan telah terjamin kualitasnya, dilengkapi dengan dokumen *Material Safety Data Sheet* (MSDS) dan *Certificate of Analysis* (COA) untuk memastikan keamanan serta kualitas bahan aktifnya.

4.6.4 Pembuatan dan Pemberian Emulgel Ekstrak Calendula

a. Pembuatan Emulgel

Ekstrak calendula dengan konsentrasi yang sesuai (10% untuk dosis sedang dan 20% untuk dosis tinggi) dicampurkan ke dalam base emulgel yang diperoleh dari PT Derma Elok Farma Industri Kosmetik. Pemilihan base ini bertujuan untuk memastikan formula emulgel yang dibuat aman, stabil, dan mampu memberikan hasil maksimal dalam aplikasi kosmetik. Base kosmetik ini telah diformulasikan khusus oleh perusahaan yang memiliki standar produksi kosmetik. Basis formulasi ini dirancang secara profesional dengan menggunakan bahan-bahan, seperti Carbopol 940, gliserin, dan triethanolamine (TEA) yang berperan sebagai penyeimbang pH. Campuran kemudian diaduk secara homogen menggunakan pengaduk magnetik hingga terbentuk emulgel yang stabil dan siap digunakan.

Tabel 4.1 Formula Emulgel Ekstrak Calendula

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

b. Penetapan Konsentrasi Ekstrak

Dosis pemberian secara topikal untuk ekstrak calendula ditentukan sebelum dilakukannya penelitian dengan studi literatur yang sudah ada. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa konsentrasi ekstrak calendula (*Calendula officinalis* L.) dengan 10% untuk penggunaan topikal menunjukkan hasil yang stabil dalam mengurangi *photoaging* akibat paparan UV. Kemudian, dilakukan peningkatan konsentrasi dari konsentrasi pertama yaitu 20% untuk melihat perbedaan efektivitas ekstrak calendula pada kulit tikus. Sehingga penelitian ini menggunakan konsentrasi 10% dan 20% pada pemberian serum ekstrak calendula (*Calendula officinalis* L.) secara topikal.¹⁴

c. Aplikasi Emulgel

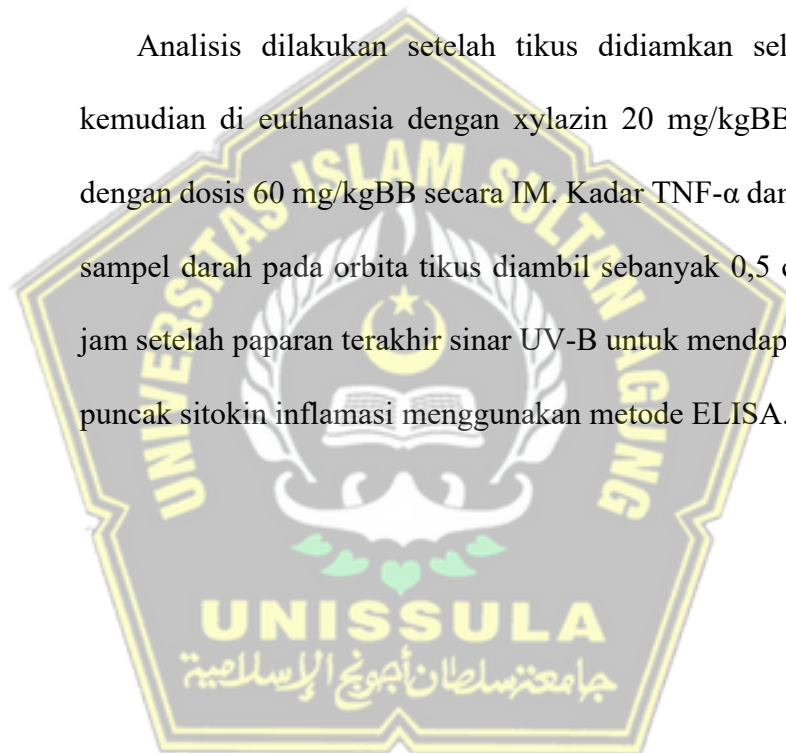
Emulgel dioleskan pada area punggung tikus yang terpapar UV sebanyak 1 kali sehari (1 jam setelah paparan), setiap kali dengan dosis 0,1 mL/cm² (1 g per ekor) selama 14 hari.⁴⁰

4.6.5 Induksi *Photodamaged* dengan Sinar UV-B

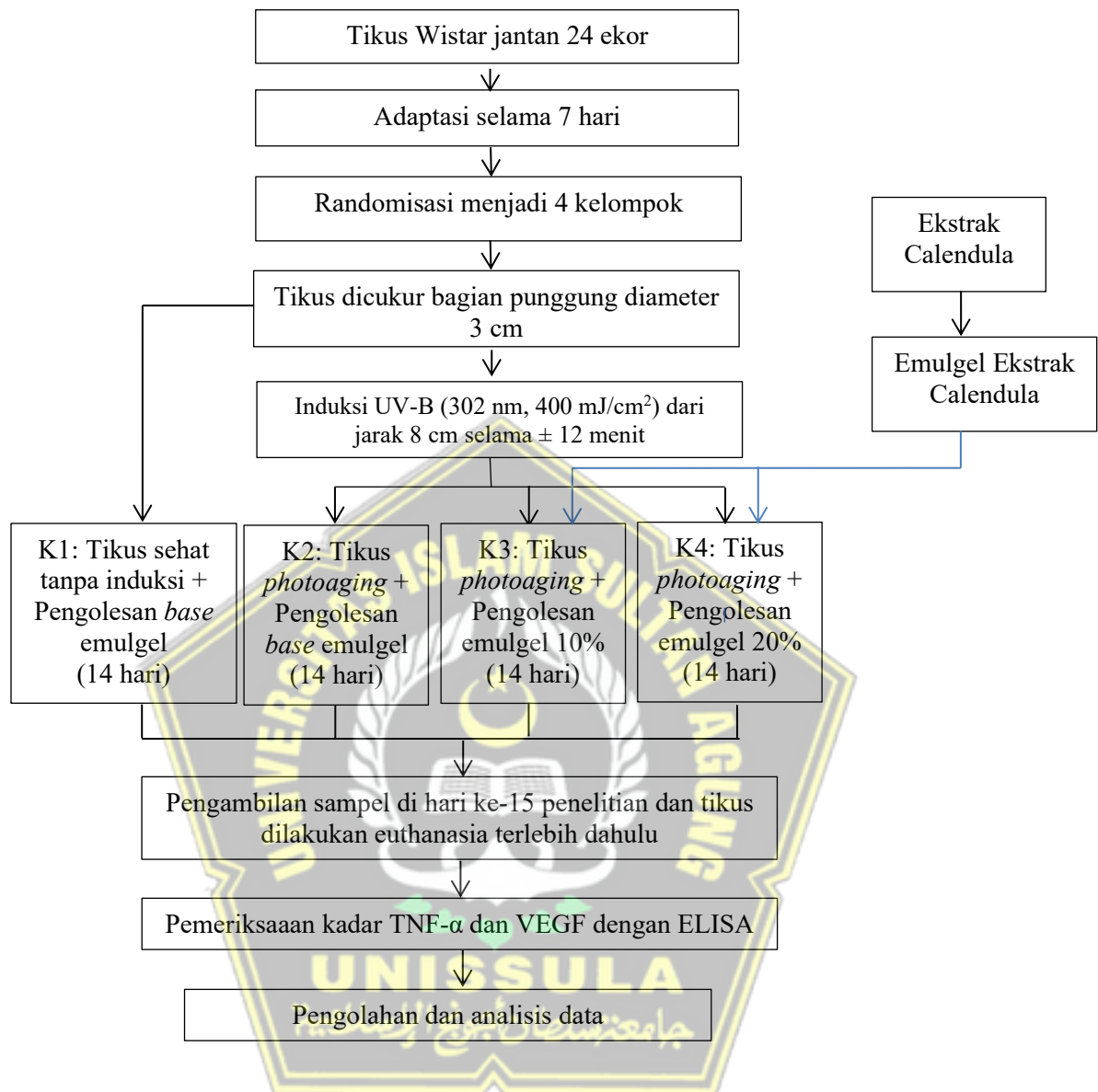
Paparan sinar UV-B diberikan pada area punggung tikus untuk menginduksi *photodamaged*. Intensitas dan durasi paparan lampu UV-B dengan panjang gelombang 302 nm, durasi penyinaran setiap hari selama 14 hari. Setiap sesi penyinaran berlangsung selama 12 menit per hari, dengan dosis 400 mJ/cm².⁴¹

4.6.6 Pengukuran Kadar (TNF- α dan VEGF)

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. Kadar TNF- α dan VEGF dalam sampel darah pada orbita tikus diambil sebanyak 0,5 cc, diambil 24 jam setelah paparan terakhir sinar UV-B untuk mendapatkan ekspresi puncak sitokin inflamasi menggunakan metode ELISA.⁴²



4.7 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Alur Penelitian

4.8 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini menggunakan ekstrak calendula dari bahan baku komersial PT INBI Nusantara Sejahtera. Sediaan emulgel diformulasikan di laboratorium PT Derma Elok Farma. Pengujian pada hewan uji dilakukan di fasilitas hewan *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL) Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung Semarang dan analisis sampel biomarker dengan ELISA dilakukan di Laboratorium CITO, Semarang. Kegiatan penelitian berlangsung pada bulan Juni-Juli 2025.

4.9 Analisis Data

Data kadar TNF- α dan VEGF dari total 24 ekor tikus (6 ekor per kelompok) dianalisis menggunakan uji statistik deskriptif, yang kemudian dilanjutkan dengan uji normalitas distribusi data menggunakan *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas varian data menggunakan *Levene test*. Data kadar TNF- α menunjukkan distribusi data normal dan varian data homogen ($p>0,05$), sehingga dilakukan uji parametrik *One Way ANOVA*. Hasil uji *One Way ANOVA* signifikan, sehingga dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD*. Data kadar VEGF terdistribusi normal dan varian data homogen ($p>0,05$), sehingga dilakukan uji parametrik menggunakan *One Way ANOVA*. Hasil uji *One Way ANOVA* tidak signifikan, sehingga tidak dilanjutkan dengan uji *Post hoc LSD*. Keputusan untuk menerima atau menolak hipotesis penelitian didasarkan pada nilai signifikansi sebesar 5% ($p<0.05$). Analisis data dilakukan menggunakan aplikasi SPSS versi 26.0.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini menggunakan tikus Wistar jantan sebagai subjek penelitian *photoaging* akibat paparan-UV-B. Jumlah keseluruhan tikus yang digunakan adalah 24 ekor yang sesuai dengan kriteria, terbagi menjadi 1 kelompok sehat, 1 kelompok negatif dan 2 kelompok perlakuan (pemberian emulgel ekstrak calendula 10% dan 20%), masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus dan sisanya digunakan sebagai cadangan. Pada penelitian ini tikus diadaptasi selama 7 hari, kemudian diberikan paparan UV-B dan diberikan perlakuan terapi emulgel ekstrak calendula 10% dan 20% pada kelompok perlakuan selama 14 hari. Pada hari ke-15 dilakukan pengambilan sampel darah pada orbita tikus dan selanjutnya dilakukan analisis data kadar TNF- α dan VEGF dengan metode ELISA. Validasi model *photoaging* dilakukan pada masing-masing tikus yang diamati perubahannya pada jaringan kulit.

5.1.1 Gambaran Makroskopis Jaringan Kulit Tikus

Paparan UV-B pada panjang gelombang 302 nm dengan kekuatan 400 mJ/cm² menyebabkan *photoaging* pada kulit tikus yang terpapar, berbeda dengan kulit tikus yang normal. Hasil pengamatan secara makroskopis menunjukkan bahwa kulit tikus dalam kondisi normal sebelum perlakuan, memiliki permukaan yang halus dan berwarna merah muda (Gambar 5.1a). *Photoaging* pada kulit tikus yang dipapar UV-B ditandai dengan permukaan kulit tikus yang terlihat kasar dan terdapat bintik-bintik kecokelatan (Gambar 5.1b).



Gambar 5.1 Gambaran makroskopis jaringan kulit tikus: (a) Tikus yang tidak dipapar UV-B; (b) Tikus yang dipapar UV-B selama 14 hari.

Pengamatan yang dilakukan untuk melihat perubahan jaringan kulit tikus, yang memberikan gambaran mengenai efek paparan UV-B terhadap kulit. Kulit tikus yang tidak dipaparkan UV-B menunjukkan permukaan kulit terlihat normal, halus, dengan warna yang relatif seragam serta tanpa adanya lesi, eritema, maupun penebalan kulit. Sebaliknya, pada kulit tikus yang dipaparkan UV-B, tampak terdapat tanda-tanda *photoaging* yang menunjukkan adanya perubahan makroskopis berupa eritema, kekasaran permukaan kulit, serta adanya penebalan dan hiperpigmentasi.

5.1.2 Kadar TNF- α

Hasil analisis ELISA dari supernatan darah orbita tikus menunjukkan bahwa rerata kadar TNF- α tertinggi terdapat pada K4 ($259,55 \pm 13,65$ ng/mL), diikuti K2 ($236,97 \pm 10,42$ ng/mL), K3 ($201,34 \pm 11,79$ ng/mL), dan terendah pada K1 ($193,62 \pm 8,09$ ng/mL). Menurut penelitian, K2 memiliki kadar TNF- α lebih tinggi dibanding K1 sebagai dampak inflamasi akibat UV-B, dan pada K3 kadar TNF- α mendekati

kelompok sehat sesuai efek antiinflamasi calendula 10%. Namun, hasil pada pemberian emulgel ekstrak calendula 20% (K4) tidak sesuai karena kadar TNF- α justru meningkat dibanding kontrol (K2) (Tabel 5.1) (Gambar 5.2).

Tabel 5.1 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar TNF- α dan *One Way ANOVA*

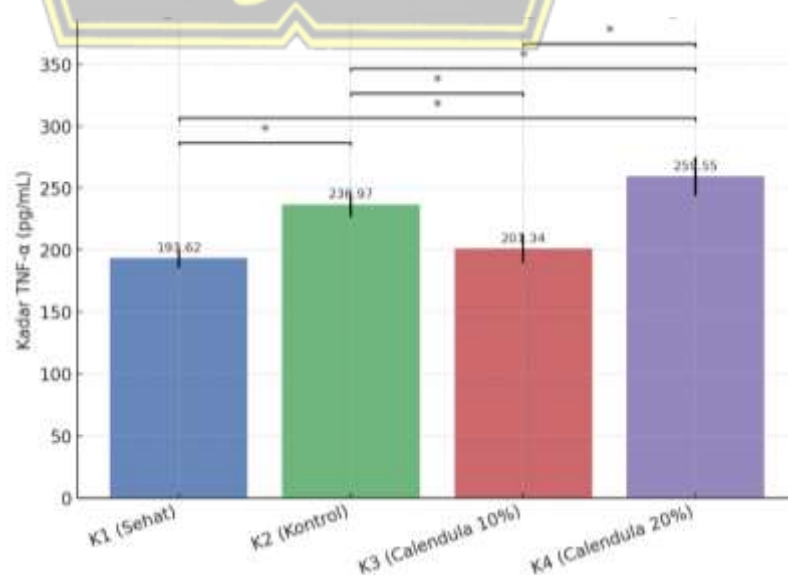
Variabel	Kelompok				<i>p Value</i>
	Sehat (K1)	Kontrol (K2)	Emulgel Calendula 10% (K3)	Emulgel Calendula 20% (K4)	
	Mean $\pm$ SD n = 6	Mean $\pm$ SD n = 6	Mean $\pm$ SD n = 6	Mean $\pm$ SD n = 6	
Kadar TNF-α	193,62 $\pm$ 8,09	236,97 $\pm$ 10,42	201,34 $\pm$ 11,79	259,55 $\pm$ 15,63	
<i>Shapiro Wilk</i>	0,388	0,738	0,822	0,554	
<i>Levene's Test</i>					0,145
<i>One way ANOVA</i>					0,001

Keterangan:

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

Levene's Test : Data homogen ($p > 0,05$)

One way ANOVA : Terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ($p < 0,05$)



Gambar 5.2 Kadar TNF- α dari darah orbita tikus pada tiap kelompok perlakuan

Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* memiliki nilai *p value* pada semua kelompok lebih dari 0,05 (K1: 0,388; K2: 0,738; K3: 0,822; K4: 0,554) yang menunjukkan bahwa data berdistribusi normal. Selanjutnya, hasil uji *Levene's test* menunjukkan nilai *p value* sebesar 0,145 ($> 0,05$), yang berarti varians antar kelompok adalah homogen. Karena kedua asumsi, yaitu normalitas dan homogenitas varians, telah terpenuhi, maka analisis perbedaan antar kelompok dapat dilanjutkan dengan menggunakan uji parametrik *One Way ANOVA*. Uji *One Way ANOVA* digunakan karena penelitian ini membandingkan rata-rata kadar TNF- α pada lebih dari dua kelompok perlakuan, yaitu K1 (sehat), K2 (kontrol), K3 (emulgel ekstrak calendula 10%), dan K4 (emulgel ekstrak calendula 20%). Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan nilai *p value* sebesar 0,001 ($< 0,05$), yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik pada kadar TNF- α antar kelompok perlakuan. Perbedaan ini selanjutnya memerlukan analisis lanjutan menggunakan uji *post hoc* untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda secara signifikan.

Tabel 5.2 menunjukkan hasil uji *Post Hoc Tukey HSD*, dimana terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok K1 (sehat) dengan K2 (kontrol) ($p = 0,001$) dan K4 (emulgel ekstrak calendula 20%) ($p = 0,001$). Hal ini menunjukkan bahwa paparan UV-B pada kelompok kontrol meningkatkan kadar TNF- α secara signifikan dibandingkan kelompok sehat, dan kadar TNF- α pada kelompok K4 juga lebih tinggi dibandingkan kelompok sehat. Perbandingan antara K1 dengan K3 (emulgel ekstrak calendula 10%) tidak menunjukkan perbedaan signifikan signifikan ($p = 0,675$), yang menunjukkan bahwa pemberian emulgel ekstrak calendula 10% mampu menekan kadar TNF- α hingga mendekati nilai normal kelompok sehat. Perbandingan antara K2 dan K3 menunjukkan perbedaan

yang bermakna ($p = 0,001$), yang menandakan bahwa pemberian emulgel ekstrak calendula 10% efektif menurunkan kadar TNF- α dibandingkan kelompok kontrol yang hanya menerima *base* emulgel. Sebaliknya, perbandingan antara K2 dan K4 juga menunjukkan perbedaan signifikan ($p = 0,017$), namun perbedaan ini justru menunjukkan bahwa kadar TNF- α pada K4 lebih tinggi dibandingkan K2.

Kemudian, perbandingan antara K3 dan K4 juga menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p = 0,001$), yang menguatkan bahwa konsentrasi ekstrak calendula 10% lebih efektif menekan kadar TNF- α dibandingkan konsentrasi 20%.

Tabel 5.2 Hasil Uji Post Hoc Tukey HSD Kadar TNF- α

Kelompok	K1	K2	K3	K4
K1		0,001*	0,675	0,001*
K2			0,001*	0,017*
K3				0,001*
K4				

Keterangan:

* : Bermakna ($p \leq 0,05$)

5.1.3 Kadar VEGF

Hasil analisis ELISA dari supernatan darah orbita tikus menunjukkan bahwa rerata kadar VEGF tertinggi terdapat pada K4 ($1312,30 \pm 220,13$ ng/mL), diikuti K3 ($1197,89 \pm 130,26$ ng/mL), K2 ($1149,34 \pm 106,49$ ng/mL), dan terendah pada K1 ($1148,47 \pm 146,59$ ng/mL). Hasil analisis menunjukkan kadar VEGF terendah pada K1 (sehat) dan sedikit meningkat pada K2 (kontrol) akibat paparan UV-B. K3 (Calendula 10%) justru menunjukkan kadar VEGF lebih tinggi dari K2, menandakan konsentrasi ini mampu untuk meningkatkan kadar VEGF. K4

(Calendula 20%) memiliki kadar VEGF tertinggi, yang menandakan bahwa dengan peningkatan konsentrasi ekstrak calendula efektif untuk meningkatkan kadar VEGF. Secara keseluruhan, baik konsentrasi 10% maupun 20% dapat meningkatkan kadar VEGF, tetapi tidak berbeda signifikan (Tabel 5.3) (Gambar 5.2).

Tabel 5.3 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar VEGF dan *One Way ANOVA*

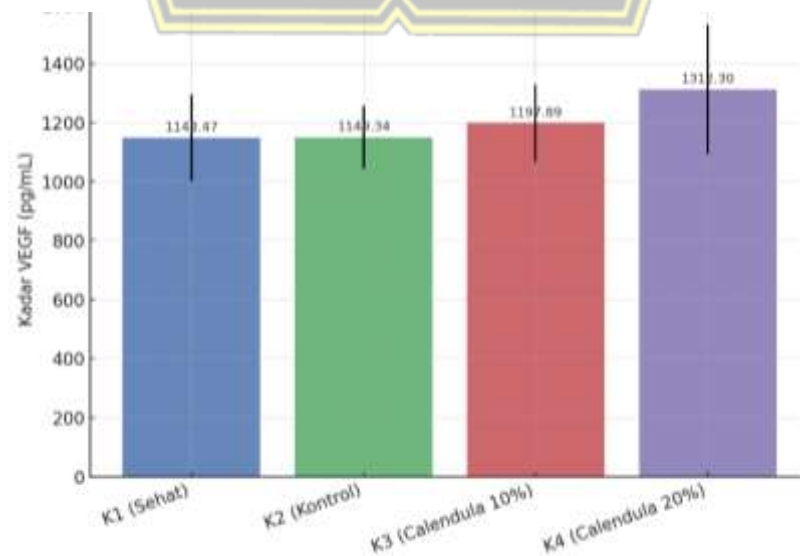
Variabel	Kelompok				<i>p Value</i>
	Sehat (K1)	Kontrol (K2)	Emulgel Calendula 10% (K3)	Emulgel Calendula 20% (K4)	
	Mean $\pm$ SD n = 6	Mean $\pm$ SD n = 6	Mean $\pm$ SD n = 6	Mean $\pm$ SD n = 6	
Kadar VEGF	1148,47 $\pm$ 146,96	1149,34 $\pm$ 106,49	1197,89 $\pm$ 130,26	1312,30 $\pm$ 220,13	
<i>Shapiro Wilk</i>	0,574	0,073	0,900	0,761	
<i>Levene's Test</i>					0,324
<i>One way ANOVA</i>					0,258

Keterangan:

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

Levene's Test : Data homogen ($p > 0,05$)

One way ANOVA : Tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ($p > 0,05$)



Gambar 5.3 Kadar VEGF dari darah orbita tikus pada tiap kelompok perlakuan

Hasil uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan data berdistribusi normal ($p > 0,05$) dan uji *Levene's test* menunjukkan varians homogen ($p > 0,05$), sehingga syarat untuk uji parametrik terpenuhi. Uji *One Way ANOVA* menghasilkan $p = 0,258 (> 0,05)$, yang berarti tidak terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik kadar VEGF antar kelompok perlakuan. Karena hasil analisis tidak signifikan, maka penelitian ini tidak dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*, mengingat uji tersebut hanya dilakukan apabila terdapat perbedaan signifikan pada uji *ANOVA*. Hal ini menandakan bahwa pemberian emulgel ekstrak *Calendula* dengan konsentrasi 10% maupun 20% tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan kadar VEGF pada tikus, sehingga efektivitasnya dalam meningkatkan ekspresi VEGF akibat *photoaging* belum dapat dibuktikan secara statistik.

5.2 Pembahasan

Penelitian ini menggunakan sampel darah melalui vena orbita pada tikus yang mencerminkan kondisi sistemik pasca perlakuan.⁴⁴ Pengambilan sampel darah dalam penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas *Calendula officinalis* secara sistemik terhadap proses inflamasi dan angiogenesis pada *photoaging*. Paparan UV-B memicu produksi ROS yang mengaktivasi jalur NF- κ B, sehingga meningkatkan sekresi TNF- α tidak hanya di kulit, tetapi juga ke dalam sirkulasi darah. Kadar VEGF yang diproduksi fibroblas, keratinosit, dan makrofag di kulit juga dilepaskan ke aliran darah sebagai sinyal angiogenik untuk perbaikan jaringan, sehingga pemeriksaan kadar TNF- α dan VEGF dari darah memberikan gambaran yang lebih menyeluruh mengenai efek biologis *Calendula*.³⁴

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) merupakan metode yang banyak digunakan untuk mendeteksi dan mengukur kadar protein spesifik, pada berbagai jenis sampel biologis. Keunggulan utama teknik ini adalah penggunaan sampel darah, yang relatif lebih mudah diperoleh dan dianalisis dibandingkan jaringan kulit. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa biomarker dalam darah mampu merefleksikan perubahan biologis yang terjadi pada jaringan kulit, sehingga pemeriksaan ELISA berbasis darah dapat menjadi sarana efektif dalam memantau proses peradangan maupun kerusakan jaringan kulit.⁴²

Hasil penelitian pada pengukuran kadar TNF- α menggunakan ELISA darah menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok yang diberi paparan UV-B dan perlakuan (kelompok kontrol dan emulgel calendula) dengan kelompok tikus sehat. Kadar TNF- α pada kelompok kontrol negatif (K2) yang terpapar UV-B dan hanya diberi *base* emulgel memiliki kadar yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok sehat (K1). Hasil ini menunjukkan bahwa dengan paparan UV-B dapat menyebabkan peningkatan produksi kadar TNF- α yang menandai adanya respons tubuh terhadap kerusakan yang diakibatkan dari paparan UV-B. Penelitian ini sejalan dengan Rosita *et al.* (2023) yang menyatakan bahwa paparan UV-B dapat memicu stres oksidatif yang mengaktifasi jalur transkripsi seperti NF- κ B dan AP-1, sehingga meningkatkan produksi sitokin proinflamasi termasuk TNF- α dan mempercepat proses *photoaging*.⁴⁵

Hasil penelitian pada pengukuran kadar VEGF menggunakan ELISA darah juga menunjukkan adanya peningkatan yang tidak signifikan antar kelompok yang diberi paparan UV-B dan perlakuan (kelompok kontrol dan emulgel calendula) dengan kelompok tikus sehat. Kadar VEGF pada kelompok negatif (K2) yang terpapar UV-B dan hanya diberi *base* emulgel memiliki kadar yang lebih tinggi

dibandingkan dengan kelompok sehat (K1). Hasil ini menunjukkan bahwa adanya respon kompensasi awal terhadap kerusakan jaringan akibat inflamasi dan stres oksidatif, di mana sel keratinosit, fibroblas, dan makrofag melepaskan VEGF untuk merangsang angiogenesis sebagai upaya perbaikan jaringan. Namun, peningkatan VEGF ini belum tentu mencerminkan angiogenesis yang efektif, karena dalam kondisi stres oksidatif berlebih, proses pembentukan pembuluh darah baru dapat bersifat tidak teratur atau bahkan maladaptif.⁴¹

Hasil pengukuran kadar TNF- α mengalami peningkatan pada kelompok perlakuan yang diberi emulgel calendula 10% dan 20% yaitu K3 ($201,34 \pm 11,79$ ng/mL) dan K4 ($259,55 \pm 13,65$ ng/mL) dibandingkan dengan kelompok sehat (K1), namun pada K3 lebih rendah kadarnya dibandingkan dengan kelompok kontrol (K2). Pada kelompok perlakuan K3, penggunaan emulgel calendula 10% dapat memberikan efek protektif yang optimal. Kandungan flavonoid seperti quercetin dan rutin dalam calendula mampu menekan aktivasi NF- κ B sehingga kadar TNF- α dapat diturunkan, meskipun tidak sampai mendekati kadar kelompok sehat. Peningkatan kadar pada kelompok perlakuan K4 dengan konsentrasi lebih tinggi yaitu emulgel calendula 20% ini menunjukkan adanya potensi efek pro-oksidan pada dosis calendula yang digunakan. Efek bifasik pada penggunaan calendula dalam konsentrasi tinggi menunjukkan sifat protektifnya hilang dan bahkan memperkuat aktivasi jalur NF- κ B, sehingga sitokin proinflamasi tetap meningkat dan meningkatkan kadar TNF- α juga.⁴⁹ Penelitian ini sejalan dengan penelitian Shahane *et al.* (2023) yang menyatakan bahwa ekstrak *Calendula officinalis* memiliki efek antiinflamasi secara dosis-dependen hingga tingkat tertentu, dengan toksisitas atau iritasi muncul pada konsentrasi paling tinggi yaitu sekitar 14,7% yang menunjukkan adanya batas keamanan pada penggunaan

topikal pada kulit dengan dosis tinggi.⁵⁰

Hasil pengukuran kadar VEGF juga mengalami peningkatan pada kelompok perlakuan yang diberi emulgel calendula 10% dan 20% yaitu K3 ($1197,89 \pm 130,26$ ng/mL) dan K4 ($1312,30 \pm 220,13$ ng/mL) dibandingkan dengan kelompok sehat (K1) dan kelompok kontrol (K2). Peningkatan ini menunjukkan adanya efek stimulasi *Calendula officinalis* yang kaya flavonoid, triterpenoid, dan saponin, yang diketahui memiliki aktivitas angiogenik melalui peningkatan ekspresi HIF-1 α dan VEGF. Mekanisme ini merupakan bentuk kompensasi biologis untuk memperbaiki kerusakan jaringan akibat inflamasi dan stres oksidatif pasca-paparan UV-B.⁴⁹

Secara keseluruhan, emulgel ekstrak *Calendula officinalis* 10% lebih efektif dalam menurunkan kadar TNF- α sehingga berpotensi sebagai agen antiinflamasi. Kandungan flavonoid, saponin, dan triterpenoid pada calendula mampu menghambat aktivasi jalur NF- κ B yang berperan penting dalam regulasi sitokin pro-inflamasi. Pemberian ekstrak calendula 20% cenderung meningkatkan kadar VEGF yang berkaitan dengan proses angiogenesis, namun pada saat yang sama justru meningkatkan kadar TNF- α sehingga dapat menimbulkan respon inflamasi. Peningkatan TNF- α pada dosis tinggi ini disebabkan oleh efek iritasi atau toksisitas lokal yang memicu aktivasi sel imun berlebihan. Dengan demikian, konsentrasi 10% lebih aman dan efektif sebagai antiinflamasi, sedangkan konsentrasi 20% berpotensi mendukung angiogenesis tetapi dengan risiko meningkatkan inflamasi.

Penelitian ini memiliki keterbatasan, yaitu tidak dilakukan analisis histopatologi kulit sehingga membatasi interpretasi terhadap tingkat kerusakan jaringan dan proses angiogenesis. Pemeriksaan histopatologi ini dapat memberikan

gambaran langsung mengenai kondisi struktur kulit, tingkat infiltrasi sel inflamasi, serta pembentukan pembuluh darah baru. Dengan tidak adanya data histopatologi, interpretasi hanya didasarkan pada parameter biokimia (TNF- α dan VEGF) yang bersifat tidak langsung. Hal ini menyebabkan pemahaman mengenai hubungan antara penurunan sitokin inflamasi, stimulasi angiogenesis, dan perbaikan jaringan kulit menjadi kurang komprehensif.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis* L. terbukti berpengaruh bermakna terhadap kadar TNF- α pada tikus Wistar yang dipapar UV-B, namun tidak berpengaruh bermakna secara statistik terhadap kadar VEGF.
2. Pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis* L. 10% berpengaruh signifikan menurunkan kadar TNF- α dibandingkan pemberian *base* emulgel kelompok kontrol (sig $p = 0,001$), namun tidak berpengaruh signifikan terhadap kadar VEGF.
3. Pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis* L. 20% tidak menurunkan kadar TNF- α , tetapi meningkatkan kadar VEGF, namun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan (sig $p = 0,258$).

6.2 Saran

1. Melakukan analisis histopatologi kulit sehingga dapat diperoleh gambaran yang lebih komprehensif mengenai tingkat kerusakan maupun regenerasi jaringan, dengan demikian hasil penelitian yang dihasilkan akan lebih valid secara ilmiah.
2. Menambah durasi perlakuan untuk mengevaluasi efek jangka panjang penggunaan emulgel calendula terhadap kadar TNF- α dan VEGF.
3. Melakukan pengujian variasi konsentrasi ekstrak calendula lebih banyak untuk menentukan dosis optimal yang efektif untuk menurunkan kadar TNF- α dan meningkatkan VEGF tanpa menimbulkan efek pro-oksidan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Michalak M. Plant Extracts As Skin Care And Therapeutic Agents. Vol. 24, International Journal Of Molecular Sciences. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023.
2. Vitale S, Colanero S, Placidi M, Di Emidio G, Tatone C, Amicarelli F, Et Al. Phytochemistry And Biological Activity Of Medicinal Plants In Wound Healing: An Overview Of Current Research. *Molecules*. 2022 Jun 1;27(11).
3. Mayangsari E, Mustika A, Nurdiana N, Samad NA. Comparison Of UVA Vs UVB Photoaging Rat Models In Short-Term Exposure [Internet]. 2024. Available From: <https://www.orcid.org/0000-0001-6461->
4. Sihotang H. PENGGUNAAN CALENDULA OFFICINALIS SEBAGAI TERAPI PENYEMBUHAN LUKA DI KULIT [Internet]. 2021. Available From: <http://jurnal.globalhealthsciencegroup.com/index.php/JPPP>
5. Hughes MCB, Williams GM, Paeon H, Fourtanier A, Green AC. Dietary Antioxidant Capacity And Skin Photoaging: A 15-Year Longitudinal Study. *Journal Of Investigative Dermatology*. 2021 Apr 1;141(4):1111-1118.E2.
6. Anna B, Blazej Z, Jacqueline G, Andrew CJ, Jeffrey R, Andrzej S. Mechanism Of UV-Related Carcinogenesis And Its Contribution To Nevi/Melanoma. 2007.
7. Chaudhari P, Srivastava S, Patel J, Macwan CP. The Utilisation Of Conventional Plant-Based Treatments In Contemporary Wound Care. 2025;(May).
8. Campa M, Baron E. Anti-Aging Effects Of Select Botanicals: Scientific Evidence And Current Trends. *Cosmetics*. 2018;5(3):1–15.
9. Hashemi SS, Rezaeian R, Rafati AR, Sanati P, Mehrabani D, Eshaghi Malekshah R, Et Al. A Review On Application Of Herbals And Their Polymer Composites In Wound Healing. *Arabian Journal Of Chemistry*. 2024;17(7):105820.

10. Kumar D. Insights Into The Emerging Wound Healing Potentials Of Some Imperative Indian And Global Plants. *European Journal Of Pharmaceutical And Medical Research*. 2022;9(1):191–200.
11. Silva D, Ferreira MS, Sousa-Lobo JM, Cruz MT, Almeida IF. Anti-Inflammatory Activity Of *Calendula Officinalis* L. Flower Extract. *Cosmetics*. 2021;8(2):1–7.
12. Lohani A, Morganti P. Age-Defying And Photoprotective Potential Of Geranium/ *Calendula* Essential Oil Encapsulated Vesicular Cream On Biochemical Parameters Against UVB Radiation Induced Skin Aging In Rat. *Cosmetics*. 2022 Apr 1;9(2).
13. Qian H, Shan Y, Gong R, Lin D, Zhang M, Wang C, Et Al. Mechanism Of Action And Therapeutic Effects Of Oxidative Stress And Stem Cell-Based Materials In Skin Aging: Current Evidence And Future Perspectives. *Front Bioeng Biotechnol*. 2023;10(January):1–11.
14. 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* [Internet]. 2024 Jun 30;11(1):48–57. Available From: <https://jsfk.farmasi.unand.ac.id/index.php/jsfk/article/view/1547>
15. Yuan L, Chen Y, Guan Y, Fu X, Tan L. Current Perspectives On The Potential Role Of Medicinal Plants In Anti-Aging , Skin-Related Disorders And Stem Cell Proliferation. 2025;
16. Jang DI, Lee AH, Shin HY, Song HR, Park JH, Kang TB, Et Al. The Role Of Tumor Necrosis Factor Alpha (Tnf-A) In Autoimmune Disease And Current Tnf-A Inhibitors In Therapeutics. *Int J Mol Sci*. 2021;22(5):1–16.

17. Shibuya M. Vascular Endothelial Growth Factor And Its Receptor System: Physiological Functions In Angiogenesis And Pathological Roles In Various Diseases. 2015;1–18.
18. Pocino K, Carnazzo V, Stefanile A, Basile V, Guerriero C, Marino M, Et Al. Tumor Necrosis Factor-Alpha: Ally And Enemy In Protean Cutaneous Sceneries. *Int J Mol Sci.* 2024;25(14).
19. Munera-Campos M, Ballesca F, Carrascosa JM. Paradoxical Reactions To Biologic Therapy In Psoriasis: A Review Of The Literature. *Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition).* 2018;109(9):791–800.
20. Zafar J, Aqeel A, Shah FI, Ehsan N, Gohar UF, Moga MA, Et Al. Biochemical And Immunological Implications Of Lutein And Zeaxanthin. *Int J Mol Sci.* 2021;22(20).
21. Laha D, Grant R, Mishra P, Nilubol N. The Role Of Tumor Necrosis Factor In Manipulating The Immunological Response Of Tumor Microenvironment. *Front Immunol.* 2021;12(April):1–12.
22. Arrighi G, Puerta A, Petrini A, Hicke FJ, Nocentini A, Fernandes MX, Et Al. Squaramide-Tethered Sulfonamides And Coumarins: Synthesis, Inhibition Of Tumor-Associated Cas IX And XII And Docking Simulations. *Int J Mol Sci.* 2022;23(14).
23. Wu CH, Chiu YL, Hsieh CY, Tsung GS, Wu LS, Cheng CC, Et Al. Cilostazol Induces ENOS And Tm Expression Via Activation With Sirtuin 1/Krüppel-Like FACTOR 2 Pathway In Endothelial Cells. *Int J Mol Sci.* 2021;22(19):1–12.
24. Singh M, Truong J, Reeves WB, Hahm JI. Emerging Cytokine Biosensors With Optical Detection Modalities And Nanomaterial-Enabled Signal Enhancement. *Sensors (Switzerland).* 2017;17(2).

25. Nilsson M, Heymach J V. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)Pathway. *Journal Of Thoracic Oncology*. 2019;1(8):768–70.
26. Claesson-Welsh L. Signal Transduction By Vascular Endothelial Growth Factor Receptors. *Biochem Soc Trans*. 2011;31(1):20–4.
27. Tang X, Yang T, Yu D, Xiong H, Zhang S. Current Insights And Future Perspectives Of Ultraviolet Radiation (UV) Exposure: Friends And Foes To The Skin And Beyond The Skin. *Environ Int*. 2024;185(January):108535.
28. Jacczak B, Rubiś B, Totoń E. Potential Of Naturally Derived Compounds In Telomerase And Telomere Modulation In Skin Senescence And Aging. *Int J Mol Sci*. 2021;22(12).
29. Mishra AK, Mishra A, Verma A, Chattopadhyay P. Effects Of Calendula Essential Oil-Based Cream On Biochemical Parameters Of Skin Of Albino Rats Against Ultraviolet B Radiation. *Sci Pharm*. 2012;80(3):669–83.
30. Amaro-Ortiz A, Yan B, D’Orazio JA. Ultraviolet Radiation, Aging And The Skin: Prevention Of Damage By Topical Camp Manipulation. *Molecules*. 2014;19(5):6202–19.
31. D’Orazio J, Jarrett S, Amaro-Ortiz A, Scott T. UV Radiation And The Skin. *Int J Mol Sci*. 2013;14(6):12222–48.
32. Singh O, Khanam Z, Misra N, Srivastava MK. Chamomile (*Matricaria Chamomilla* L.): An Overview. *Pharmacogn Rev*. 2019;5(9):82–95.
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. 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;12:100199.
35. Shahane K, Kshirsagar M, Tambe S, Jain D, Rout S, Ferreira MKM, Et Al. An Updated Review On The Multifaceted Therapeutic Potential Of *Calendula Officinalis* L. *Pharmaceutics*. 2023;16(4):1–21.
 36. Zhou WP, Zhu YF, Zhang B, Qiu WY, Yao YF. The Role Of Ultraviolet Radiation In The Pathogenesis Of Pterygia (Review). *Mol Med Rep*. 2016;14(1):3–15.
 37. Ansary TM, Hossain MR, Kamiya K, Komine M, Ohtsuki M. Inflammatory Molecules Associated With Ultraviolet Radiation-Mediated Skin Aging. *Int J Mol Sci*. 2021;22(8).
 38. Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Photoaging: UV Radiation-Induced Inflammation And Immunosuppression Accelerate The Aging Process In The Skin. *Inflammation Research*. 2022;71(7–8):817–31.
 39. Hartono SP, Bedell VM, Alam SK, O’Gorman M, Serres MK, Hall SR, Et Al. Vascular Endothelial Growth Factor As An Immediate-Early Activator Of Ultraviolet-Induced Skin Injury. *Mayo Clin Proc*. 2022;97(1):154–64.
 40. Naveed A, Uz Zaman S, Ali Khan B, Shoaib Khan HM, Akhtar N, Khan S, 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.
 41. Rosita C, Prakoeswa S. Wistar Rat As Photoaging Mouse Model. Vol. 33, *Journal Of Pakistan Association Of Dermatologists*. 2023.
 42. Krissanti I, Hanifa R, Dwiwina RG. Efektivitas Dan Pengaruh Kombinasi Anestesi Ketamine-Xylazine Pada Tikus (*Rattus Norvegicus*). *Gunung Djati Conference Series [Internet]*. 2023;18.

43. Parasuraman S, Raveendran R, Kesavan R. Blood Sample Collection In Small Laboratory Animals. *J Pharmacol Pharmacother*. 2010 Jul;1(2):87–93.
44. Teilmann AC, Madsen AN, Holst B, Hau J, Rozell B, Abelson KSP. Physiological And Pathological Impact Of Blood Sampling By Retro-Bulbar Sinus Puncture And Facial Vein Phlebotomy In Laboratory Mice. *Plos One*. 2014 Nov 26;9(11).
45. Kang W, Choi D, Park T. Dietary Suberic Acid Protects Against UVB-Induced Skin Photoaging In Hairless Mice. *Nutrients*. 2019 Dec 1;11(12).
46. Guo Q, Jin Y, Chen X, Ye X, Shen X, Lin M, Et Al. NF-Kb In Biology And Targeted Therapy: New Insights And Translational Implications. Vol. 9, *Signal Transduction And Targeted Therapy*. Springer Nature; 2024.
47. Ejiohuo O, Folami S, Maigoro AY. Calendula In Modern Medicine: Advancements In Wound Healing And Drug Delivery Applications. Vol. 12, *European Journal Of Medicinal Chemistry Reports*. Elsevier Masson S.R.L.; 2024.
48. Shahane K, Kshirsagar M, Tambe S, Jain D, Rout S, Karolina M, Et Al. Therapeutic Applications Of Calendula Officinalis Subjects: Cardiac & Cardiovascular Systems. *Encyclopedia.Pub* [Internet]. 2023; Available From: <https://Encyclopedia.Pub/Entry/43784>
49. Fonseca YM, Catini CD, Vicentini FTMC, Nomizo A, Gerlach RF, Fonseca MJV. Protective Effect Of Calendula Officinalis Extract Against UVB-Induced Oxidative Stress In Skin: Evaluation Of Reduced Glutathione Levels And Matrix Metalloproteinase Secretion. *J Ethnopharmacol*. 2010 Feb;127(3):596–601.

50. Shahane K, Kshirsagar M, Tambe S, Jain D, Rout S, Ferreira MKM, Et Al. An Updated Review On The Multifaceted Therapeutic Potential Of *Calendula Officinalis* L. Vol. 16, Pharmaceuticals. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023.
51. Nagaraja S, Chen L, Dipietro LA, Reifman J, Mitrophanov AY. Predictive Approach Identifies Molecular Targets And Interventions To Restore Angiogenesis In Wounds With Delayed Healing. *Front Physiol.* 2019;10(MAY).
52. Menzel A, Samouda H, Dohet F, Loap S, Ellulu MS, Bohn T. Common And Novel Markers For Measuring Inflammation And Oxidative Stress Ex Vivo In Research And Clinical Practice— Which To Use Regarding Disease Outcomes? *Antioxidants.* 2021;10(3):1–61.

