

TESIS

**PEMBERIAN TOPIKAL EKSTRAK KUNYIT
(*Curcuma longa*) TERHADAP EKSPRESI *TUMOR
NECROSIS FACTOR ALPHA* (TNF- α) DAN KOLAGEN
TIPE 1 PADA MENCIT BALB/C YANG DIRADIASI
SINAR UVB**



Oleh

**Aletheia Threskeia
NIM 091814353007**

**PROGRAM STUDI MAGISTER
IMUNOLOGI
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2021**

TESIS

**PEMBERIAN TOPIKAL EKSTRAK KUNYIT
(*Curcuma longa*) TERHADAP EKSPRESI *TUMOR
NECROSIS FACTOR ALPHA* (TNF- α) DAN KOLAGEN
TIPE 1 PADA MENCIT BALB/C YANG DIRADIASI
SINAR UVB**

Oleh

**Aletheia Threskeia
NIM 091814353007**

**PROGRAM STUDI MAGISTER
IMUNOLOGI
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2021**

TESIS

**PEMBERIAN TOPIKAL EKSTRAK KUNYIT (*Curcuma longa*)
TERHADAP EKSPRESI *TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA* (TNF- α)
DAN KOLAGEN TIPE 1 PADA MENCIT BALB/C YANG DIRADIASI
SINAR UVB**

Untuk Memenuhi Syarat Memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Imunologi
Pada Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh:

Aletheia Threskeia
NIM : 091814353007

**PROGRAM STUDI MAGISTER
IMUNOLOGI
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2021**

Lembar pengesahan

TESIS

PEMBERIAN TOPIKAL EKSTRAK KUNYIT (*Curcuma longa*) TERHADAP
EKSPRESI *TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA* (TNF- α) DAN KOLAGEN
TIPE 1 PADA MENCIT BALB/C YANG DIRADIASI SINAR UVB

TELAH DISETUJUI

PADA TANGGAL 9 JULI 2021

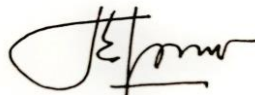
Oleh:

Pembimbing Ketua



Dr. Willy Sandhika, dr., M.Si., Sp.PA(K)
NIP. 196403141990021001

Pembimbing Kedua



Prof. Dr. A. Retno Pudji Rahayu, drg., M.Kes
NIP. 195911141986032002

Mengetahui,

Koordinator Program Studi

Magister Immunologi



Prof. Dr. Theresia Indah Budhy., drg., M.Kes. Sp.PMM(K)
NIP. 196106071987032005

Telah diuji pada

Tanggal : 21 Juni 2021

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. Dr. I Ketut Suidiana, Drs., M.Si

Anggota : 1. Dr. Willy Sandhika, dr., M.Si., Sp.PA(K)

2. Prof. Dr. A. Retno Pudji Rahayu, drg., M.Kes

3. Prof. Retno Handajani, dr., MS.PhD

4. Dr. Retno Palupi, drg., M.Kes

PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Aletheia Threskeia

NIM : 091814353007

Program Studi : Magister Imunologi

Judul Tesis : PEMBERIAN TOPIKAL EKSTRAK KUNYIT (*Curcuma longa*) TERHADAP EKSPRESI *TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA* (TNF- α) DAN KOLAGEN TIPE 1 PADA MENCIT BALB/C YANG DIRADIASI SINAR UVB

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tesis saya ini adalah asli (hasil karya sendiri) bukan merupakan hasil peniruan atau penjiplakan (Plagiarism) dari karya orang lain. Tesis ini belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik.

Dalam tesis ini tidak terdapat pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan didalam daftar pustaka. Demikian, pernyataan ini dibuat tanpa adanya paksaan dari pihak manapun, apabila pernyataan ini tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan norma dan peraturan yang berlaku di Universitas Airlangga.

Surabaya, 6 Juni 2021



Aletheia Threskeia
091814353007

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan tesis dengan judul PEMBERIAN TOPIKAL EKSTRAK KUNYIT (*Curcuma longa*) TERHADAP EKSPRESI *TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA* (TNF- α) DAN KOLAGEN TIPE 1 PADA MENCIT BALB/C YANG DIRADIASI SINAR UVB.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

1. Dr. Willy Sandhika, dr., M.Si., Sp.PA(K) selaku pembimbing ketua yang dengan sabar telah meluangkan waktu untuk membimbing dan memberikan pemahaman dalam penyusunan tesis ini, serta memberikan saran dan motivasi kepada penulis.
2. Prof. Dr. A. Retno Pudji Rahayu, drg., M.Kes selaku pembimbing kedua, yang dengan sabar telah meluangkan waktu untuk mengajarkan, menjelaskan, dan memberikan saran selama penyusunan tesis ini.
3. Direktur Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga Dr. Rudi Purwono, S.E., M.SE dan Koordinator Program Studi Magister Imunologi yaitu Prof. Dr. Theresia Indah Budhy., drg., M.Kes. Sp.PMM atas kesempatan mengikuti pendidikan di Program Studi Magister Imunologi Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga
4. Prof. Dr. I Ketut Sudiana., Drs., M.Si selaku penguji atas masukan dan saran yang sangat membantu dalam dalam penelitian tesis ini

5. Prof. Retno Handajani, dr., MS.PhD selaku penguji atas masukan dan saran yang sangat membantu dalam dalam penelitian tesis ini
6. Dr. Retno Palupi, drg., M.Kes selaku penguji atas masukan dan saran yang sangat membantu dalam dalam penelitian tesis ini.
7. Seluruh Staf pengajar pengajar Magister Imunologi Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga atas wawasan kelimuan selama mengikuti pendidikan Magister.
8. Kedua orangtua saya tercinta, Arief Widjaja dan Sari Pratidina yang telah memberikan dukungan doa, materiil, serta semangat.
9. Teman seperjuangan saya Nuraniar Bariq Kinayoh yang telah dengan sabar bersama-sama berjuang untuk dapat menyelesaikan tesis S2 Imunologi.

Surabaya, 6 Juni 2021

Penulis

RINGKASAN

Pemberian Topikal Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa*) terhadap Ekspresi *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) dan Kolagen Tipe-1 pada Mencit Balb/c yang Diradiasi Sinar UVB

Photoaging adalah penuaan kulit prematur akibat paparan sinar matahari dalam jangka waktu lama yang ditandai dengan adanya kerutan kasar, tekstur kasar, dan hilangnya elastisitas pada kulit. Sinar ultraviolet (UV) disebut sebagai penyebab utama, yaitu sebesar 80% penuaan kulit wajah. Selain *photoaging*, kerusakan DNA yang disebabkan oleh paparan sinar UVB juga dapat menjadi cikal bakal terjadinya kanker pada kulit. Oleh karena itu, efek radiasi sinar UVB pada kulit merupakan masalah medis yang nyata sehingga prevensi *photoaging* juga diharapkan dapat menjadi prevensi terjadinya kanker pada kulit.

Secara singkat, terjadinya *photoaging* diawali oleh terbentuknya ROS karena paparan sinar UVB. Peningkatan ROS dapat mengaktifkan jalur Nf- κ B dan MAPK yang secara berturut-turut menyebabkan peningkatan ekspresi TNF- α dan degradasi kolagen tipe-1. Peningkatan TNF- α merupakan respons awal dari paparan UVB, sedangkan penurunan ekspresi kolagen tipe-1 merupakan gambaran kronis dari paparan UVB.

Kunyit (*Curcuma longa*) adalah herbal rhizomatosa yang dibudidayakan dan digunakan sebagai bumbu dapur di India, Cina, Indonesia, Thailand, dan daerah tropis lain termasuk di Afrika. Salah satu bahan aktif dalam kunyit adalah kurkumin, yaitu suatu senyawa kimia yang memberikan warna kuning cerah pada kunyit. Kurkumin telah dikenal sebagai suatu antioksidan yang dapat mentralkan radikal bebas. Meskipun berbagai penelitian telah melaporkan manfaat kunyit pada kulit, namun belum didapatkan publikasi mengenai efek pemberian kunyit secara tunggal dan topikal pada percobaan *in vivo* dalam kerangka konsep *photoaging*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak kunyit secara topikal dalam mencegah terjadinya *photoaging* dengan menggunakan ekspresi TNF- α dan kolagen tipe 1 sebagai variabel yang diukur.

Penelitian ini adalah penelitian *true experimental* dengan rancangan penelitian *post-test only control group design*. Mencit balb/c sejumlah 32 ekor dibagi menjadi 4 kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol normal (K1), kelompok kontrol sakit/paparan UVB (K2), kelompok paparan UVB + *vehicle* (P1), dan kelompok paparan UVB + ekstrak kunyit topikal (P2). Kelompok K2, P1, dan P2 mendapatkan perlakuan berupa paparan UVB sebanyak 24 kali selama 4 minggu (6 kali/minggu). Mencit dipapar dengan dosis sinar UVB sebesar 1 *Minimal Erythematous Dose* (MED), di mana 1 MED adalah sebesar 240 mJ/cm², pada jarak 18 cm di atas dorsal mencit, dengan lama paparan 35 menit/paparan. Total dosis paparan adalah sebesar 5760 mJ/cm². Setiap kali mencit akan dipapar dengan sinar UVB, kelompok P1 dan P2 secara berturut-turut diberikan olesan *vehicle* (vaselin) dan ekstrak kunyit topikal 16% sesaat sebelum paparan. Setelah 4 minggu, pada

hari ke-27, setelah paparan terakhir dilakukan, mencit dianestesi dan dilakukan pengambilan jaringan kulit untuk diperiksa menggunakan metode imunohistokimia untuk melihat ekspresi TNF- α dan ekspresi kolagen tipe 1.

Secara berturut-turut hasil ekspresi TNF- α terendah ke tertinggi yaitu: kelompok kontrol normal (K1) ($8,0500 \pm 0,58310$), kelompok UVB + salep ekstrak kunyit (P2) ($10,3750 \pm 0,78148$), kelompok kontrol sakit/paparan UVB (K2) ($17,0750 \pm 1,33068$), dan kelompok paparan UVB + *vehicle* (P1) ($17,7143 \pm 1,24288$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa meskipun rerata ekspresi TNF- α pada kelompok yang diaplikasikan kunyit (P2) tidak serendah ekspresi TNF- α pada kelompok kontrol normal (K1), tetapi tetap ada perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol sakit/paparan UVB (K2) ($p < 0,05$). Hal ini sejalan dengan penelitian-penelitian lain yang melaporkan manfaat kunyit sebagai bahan yang poten digunakan sebagai fotoprotektor, terutama bila diberikan secara topikal. Menurut penelitian terdahulu, kemungkinan besar kunyit dapat menurunkan TNF- α melalui fungsinya sebagai antioksidan dan pengikat reseptor-reseptor yang digunakan untuk induksi transkripsi TNF- α .

Selanjutnya, secara berturut-turut hasil ekspresi kolagen tipe-1 tertinggi ke terendah yaitu: kelompok paparan UVB + salep ekstrak kunyit (P2) ($3,5725 \pm 0,26938$), kelompok kontrol normal (K1) ($3,4213 \pm 0,50969$), kelompok UVB + *vehicle* (P1) ($2,9086 \pm 0,25162$), dan kelompok kontrol sakit/paparan UVB (K2) ($2,3163 \pm 0,44291$). Hasil ekspresi kolagen tipe-1 juga menunjukkan bahwa ekspresi kolagen tipe-1 tertinggi didapatkan pada kelompok paparan UVB yang diberi ekstrak kunyit topikal (P2) dengan perbedaan rerata yang signifikan dibanding dengan kelompok kontrol sakit/paparan UVB (K2) ($p < 0,05$). Hasil ini selaras dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa kandungan kurkumin dalam kunyit memiliki sifat fotoprotektif. Menurut penelitian terdahulu, kurkumin dapat menghambat degradasi kolagen tipe-1 melalui ikatannya dengan ROS dan menghambatnya terhadap jalur degradasi kolagen. Selain mencegah degradasi kolagen, kunyit dilaporkan memiliki kemampuan untuk menginduksi deposisi kolagen dan menghambat gangguan akumulasi kolagen.

Kesimpulan hasil penelitian ini adalah pada pemberian ekstrak kunyit (*Curcuma longa*) topikal pada mencit yang dipapar sinar UVB, didapatkan penurunan ekspresi TNF- α dan peningkatan ekspresi kolagen tipe-1 yang signifikan. Penelitian lebih spesifik yang menggunakan dosis ekstrak kunyit perlu dilakukan untuk melihat dosis paling efektif dalam memproteksi kulit terhadap paparan sinar UVB.

SUMMARY

Topical Administration of Turmeric Extract (*Curcuma longa*) on Expression of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) and Type 1 Collagen in Balb/c Mice Radiated by UVB Light

Photoaging is premature skin aging caused by long-term sun exposure which is characterized by rough wrinkles, rough texture, and loss of elasticity in the skin. Ultraviolet (UV) rays are said to be the main cause, responsible for 80% of facial skin aging. In addition to photoaging, DNA damage caused by exposure to UVB rays can also lead to skin cancer. Therefore, UVB radiation on the skin could be a real medical problem and photoaging prevention is also expected to be able to prevent skin cancer.

Briefly, the occurrence of photoaging is initiated by the formation of ROS due to exposure to UVB rays. Increased ROS can activate Nf- κ B and MAPK pathways which, respectively, lead to increased TNF- α expression and type-1 collagen degradation. Increased TNF- α is an early response to UVB exposure, whereas decreased expression of type-1 collagen is a chronic feature of UVB exposure.

Turmeric (*Curcuma longa*) is a rhizomatous herb that is cultivated and used as a kitchen spice in India, China, Indonesia, Thailand, and other tropical regions including Africa. One of the active components in turmeric is curcumin, which is a chemical compound that gives turmeric its bright yellow color. Curcumin has been known as an antioxidant that can neutralize free radicals. Although various studies have reported the benefits of turmeric on the skin, there has not been any publication on the effects of administering turmeric singly and topically in *in vivo* experiments within the framework of photoaging. Therefore, this study aimed to examine the effect of topical administration of turmeric extract in preventing photoaging by using the expression of TNF- α and type 1 collagen as the measured variables.

This research is a true experimental research with post-test only control group design. This study used 32 balb/c mice which were divided into 4 groups consisting of a normal control group (K1), a sick control/UVB exposed group (K2), a UVB exposed + vehicle group (P1), and a UVB exposed + topical turmeric extract group (P2). Groups K2, P1, and P2 received UVB exposure 24 times for 4 weeks (6 times/week). Mice were exposed to a dose of UVB light of 1 Minimal Erythema Dose (MED) per exposure, where 1 MED was 240 mJ/cm², at a distance of 18 cm above the mice's dorsal, with a duration of exposure of 35 minutes/exposure. The total exposure dose was 5760 mJ/cm². Each time the mice were exposed to UVB light, groups P1 and P2 were given topical vehicle (vaseline) and 16% turmeric extract, respectively, just before exposure. After 4 weeks, on the 27th day, after the last exposure, the mice were anesthetized and skin tissue was taken for examination using the immunohistochemistry staining.

The results of the lowest to highest TNF- α expression were: normal control group (K1) (8.0500 \pm 0.58310), UVB exposed + topical turmeric extract-applied

group (P2) (10.3750 ± 0.78148), sick control/UVB exposed group (K2) (17.0750 ± 1.33068), and UVB exposed + vehicle-applied group (P1) (17.7143 ± 1.24288). The results showed that although the mean expression of TNF- α in the turmeric-applied group (P2) was not as low as TNF- α expression in the normal control group (K1), there was still a significant difference compared to the sick control//UVB exposed group (K2) ($p < 0.05$). These results are in line with other studies that report the benefits of turmeric as a potent ingredient used as a photoprotector, especially when administered topically. According to previous studies, it is likely that turmeric can reduce TNF- α through its function as an antioxidant and binder to receptors used for the induction of TNF- α transcription.

Furthermore, the highest to lowest type-1 collagen expression were: UVB exposed + topical turmeric extract-applied group (P2) (3.5725 ± 0.26938), normal control group (K1) (3.4213 ± 0.50969), UVB exposed + vehicle-applied group (P1) (2.9086 ± 0.25162), and sick control/UVB exposed group (K2) (2.3163 ± 0.44291). These results showed that the highest type-1 collagen expression was found in the UVB exposed group + topical turmeric extract-applied group (P2) with a significant mean difference compared to the sick control/UVB exposed group (K2) ($p < 0,05$). These results are in line with previous studies which state that the curcumin content in turmeric has photoprotective properties. According to previous studies, curcumin can inhibit the degradation of type-1 collagen through its binding to ROS and its inhibition of the collagen degradation pathway. In addition to preventing collagen degradation, turmeric is reported to have the ability to induce collagen deposition and inhibit collagen accumulation disorders.

The conclusion of this research is that topical administration of turmeric (*Curcuma longa*) extract to mice exposed to UVB light resulted in a significant decrease in TNF- α expression and a significant increase in type-1 collagen expression. More specific research using doses of turmeric extract needs to be done to know the most effective dose in protecting the skin against UVB light exposure.