

**KARYA AKHIR**

**EFEK KRIM EKSTRAK *GARCINIA MANGOSTANA* DALAM  
MENURUNKAN KADAR MALONDIALDEHID (MDA) PADA  
INFLAMASI KULIT MENCIT ALBINO YANG DIINDUKSI  
*12-O-TETRADECANOLPHORBOL-13 ACETATE* (TPA)**

***THE EFFECT OF GARCINIA MANGOSTANA EXTRACT  
CREAM IN REDUCING MALONDIALDEHID (MDA) LEVELS  
ON SKIN INFLAMMATION OF ALBINO MICE INDUCED BY  
12-O-TETRADECANOLPHORBOL-13 ACETATE (TPA)***

**NATALIA WIDJAJA**

**C115201003**



**KONSENTRASI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS**

**PROGRAM PASKA SARJANA**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR 2021**

**EFEK KRIM EKSTRAK *GARCINIA MANGOSTANA* DALAM  
MENURUNKAN KADAR MALONDIALDEHID (MDA) PADA INFLAMASI  
KULIT MENCIT ALBINO YANG DIINDUKSI  
*12-O-TETRADECANOLPHORBOL-13 ACETATE* (TPA)**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Spesialis

Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis

Disusun dan diajukan oleh

**NATALIA WIDJAJA**

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)**

**DEPARTEMEN ILMU KESEHATAN KULIT & KELAMIN**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2021**

**LEMBAR PENGESAHAN**

**EFEK KRIM EKSTRAK *GARCINIA MANGOSTANA* DALAM MENURUNKAN  
KADAR MALONDIALDEHID (MDA) PADA INFLAMASI KULIT MENCIT  
ALBINO YANG DIINDUKSI  
12-O-TETRADECANOLPHORBOL-13 ACETATE (TPA)**

Disusun dan diajukan oleh :

**NATALIA WIDJAJA**

**Nomor Pokok : C115201003**

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Spesialis Program Studi Dermatologi dan Venereologi  
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 8 Desember 2021  
dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

**Menyetujui,**

Pembimbing Utama

**Dr. dr. Siswanto Wahab, Sp.KK(K),**  
**FINSDV, FAADV**  
**NIP : 19650527 199903 1 002**

Pembimbing Anggota

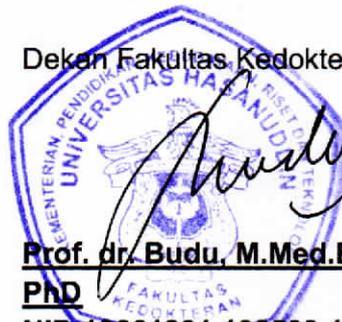
**Dr. dr. Khairuddin Djawad, Sp.KK(K),**  
**FINSDV, FAADV**  
**NIP: 19660213 199603 1 001**

Ketua Program Studi

**Dr. dr. Khairuddin Djawad, Sp.KK(K),**  
**FINSDV, FAADV**  
**NIP: 19660213 199603 1 001**

Dekan Fakultas Kedokteran

**Prof. dr. Budu, M.Med.Ed, Sp.M(K),**  
**PHD**  
**NIP: 19661231 199503 1 009**



## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Natalia Widjaja  
No. Stambuk : C115201003  
Program Studi : Ilmu Kesehatan Kulit & Kelamin

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 08 Agustus 2023

Yang menyatakan,



**Natalia Widjaja**

## **PRAKATA**

Segala hormat, puji, dan syukur bagi Tuhan Yang Maha Esa atas seluruh berkah dan karunia-Nya sehingga tesis ini dapat selesai. Saya mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah berperan sehingga saya dapat menempuh Program Pendidikan Dokter Spesialis I sampai tersusunnya tesis ini.

Kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Ketua Program Pendidikan Dokter Spesialis I Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, saya mengucapkan banyak terima kasih atas izin dan kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan dokter spesialis di Departemen Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Saya mengucapkan terima kasih kepada Dr. dr. Siswanto Wahab, Sp.KK(K), FINS DV, FAADV selaku Kepala Departemen Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin sekaligus pembimbing 1 tesis saya dan kepada Ketua Program Studi Departemen Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan sekaligus pembimbing 2 tesis saya, Dr. dr. Khairuddin Djawad, Sp.KK(K), FINS DV, FAADV atas segala curahan perhatian, bimbingan, arahan, didikan, kebaikan, nasehat serta masukan selama saya menempuh pendidikan sampai tersusunnya tesis ini.

Saya juga hendak mengucapkan terima kasih kepada yang

terhormat Dr. dr. Burhanuddin Bahar, Ms, selaku pembimbing statistik/metode penelitian saya serta kepada penguji I dan penguji 2 tesis saya, dr. Upik. A. Miskad, Ph.D, Sp.PA dan Dr. Dra. R.R. Christina Avanti, M,Si, Apt., atas segala masukan, kebaikan, didikan, arahan, inspirasi, dan umpan balik yang disampaikan selama penyusunan tesis ini. Semoga segala kebaikan beliau sekalian dibalas berkah yang berlimpahan dari Tuhan Yang Maha Esa.

Kepada yang terhormat seluruh Staf pengajar dan guru-guru saya di Departemen Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, terima kasih atas segala bimbingan dan kesabaran dalam mendidik sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan ini dengan lancar, semoga ilmu yang telah diberikan dapat menjadi bekal dalam menghadapi era globalisasi mendatang.

Penghargaan dan terima kasih yang sebesar-besarnya saya berikan kepada suami saya dr. Jonny Chen Indra Natakesuma, anak saya Sean Leonard Natakesuma, dan Samuel Kingston Natakesuma atas kasih sayang, pengorbanan, kesabaran, pengertian, kesetiaan, dukungan, dan doanya selama saya menjalani pendidikan ini. Saya ucapkan juga terima kasih yang teramat dalam untuk kedua orangtua saya; ayah saya John Widjaja dan ibu saya Yuliana, atas segala cinta, kasih sayang, doa, dukungan baik moril maupun materil, semangat, pengorbanan, dan nasehat yang diberikan sejak saya lahir hingga sekarang. Kupanjatkan doa kepada Tuhan Yang Maha Esa agar keluargaku tersayang senantiasa diberkahi

umur panjang, kesehatan, rezeki yang berlimpah, kebaikan dan kebahagiaan yang tak pernah putus.

Kepada seluruh teman-teman Peserta Program Pendidikan Spesialisasi Departemen Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin terima kasih atas segala bantuan, dorongan dan pengertian teman-teman selama bersama-sama menjalani pendidikan ini. Terkhusus kepada sahabat-sahabat “Hep7agon” dr. Akbar Pratama, dr. Ketut Alit Pinidha Savitri, dr. Ayuda Febriliani Mardhana, dr. Tania Azhari, dr. Ritami Masita dan dr. Clinton. Terimakasih atas segala perhatian, dukungan, semangat, persahabatan, selama menempuh Program Pendidikan Dokter Spesialis Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.

Kepada seluruh teman-teman Peserta Program Pendidikan Spesialisasi Departemen Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin terima kasih atas segala bantuan, dorongan, pengertian dan telah menjadi inspirasi dan pelajaran berharga bagi saya. Doa terbaik terpanjatkan agar kiranya Tuhan Yang Maha Esa memberi balasan berkali-kali lipat untuk setiap amalan dan input dalam proses pendidikan ini.

Semoga Tuhan Yang Maha Esa selalu melimpahkan berkah dan karunia-Nya bagi kita.

Makassar, 08 Agustus 2023

Natalia Widjaja

## ABSTRAK

NATALIA WIDJAJA. *Efek Krim Ekstrak Garcinia Mangostana dalam Menurunkan Kadar Malondialdehid (MDA) pada Inflamasi Kulit Mencit Albino yang Diinduksi 12-O-Tetradecanolphorbol-L3 Acetate (TPA)* (dibimbing oleh Siswanto Wahab dan Khairuddin Djawad)

Kulit merupakan organ terbesar dalam tubuh manusia. menjadi pembatas utama antara lingkungan luar dan tubuh. sehingga akan terus-menerus terpapar lingkungan kimia dan polutan fisik. Stres oksidatif adalah keadaan ketidakseimbangan antara pro-oksidan dan antioksidan disebabkan oleh pembentukan ROS yang melebihi kemampuan sistem pertahanan antioksidan. Dengan semakin berkembangnya ilmu dan teknologi. semakin dikembangkan pula obat-obatan berbahan dasar alami. Salah satunya adalah kulit *Garcinia mangostana* yang mempunyai efek sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan menilai efek krim ekstrak kulit *Garcinia mangostana* dalam menurunkan kadar MDA pada kulit mencit albino yang diinduksi TPA. Metode penelitian eksperimental menggunakan hewan coba dengan rancangan *randomized posttest control group design* dilakukan pada 35 mencit albino betina yang kemudian dibagi menjadi 7 kelompok perlakuan. Model inflamasi dilakukan dengan induksi TPA. Kontrol positif dilakukan dengan hidrokortison asetat 1 % Konsentrasi krim ekstrak kulit *Garcinia mangostana* yang digunakan adalah 2.5%, 5%, dan 10%. Efek anti oksidan diukur dengan melakukan pemeriksaan kadar MDA sebagai biomarker antioksidan. Data dianalisis dengan uji Shapiro-Wilk. Mann *Whitney* dan Kruskal Wallis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar MDA memperlihatkan nilai rata-rata tertinggi pada kelompok perlakuan dengan TPA. Adapun kadar MDA menunjukkan nilai rata-rata terendah pada kelompok perlakuan dengan ekstrak GM 10%. Efek krim ekstrak kulit manggis memberikan hasil yang signifikan dalam memengaruhi penurunan kadar MDA ( $p < 0.05$ ). Didapatkan perbedaan kadar MDA yang signifikan pada kelompok TPA dibandingkan dengan kelompok hidrokortison. ekstrak GM 5% serta ekstrak GM 10%. Dengan demikian konsentrasi terbaik krim ekstrak kulit buah manggis dalam menurunkan kadar MDA didapatkan pada konsentrasi 10%. Kesimpulan, ekstrak kulit *Garcinia mangostana* berpotensi menjadi alternatif agen anti oksidan akut pada kulit.

Kata kunci: *Garcinia mangostana*. antioksidan. TPA



## ABSTRACT

NATALIA WIDJAJA. Effect OF *Garcinia Mangostana* Extract Cream in Reducing Malondialdehyd (MDA) Level in Albino Mouse Skin Inflammation Induced by 12-0-Tetradecanolphorbol-13 Acetate (TPA) (supervised by Siswanto Wahab and Khairuddin Djawad).

The skin is the largest organ in the human body, being the main barrier between the external environment and the body, so it is constantly exposed to the chemical and physical environmental pollutants. Oxidative stress is a state of imbalance between the pro-oxidants and antioxidants caused by the formation of ROS that exceeds the ability of the antioxidant defence system. With the development of science and technology, medicines made from the natural ingredients are also being developed, one of which is *Garcinia mangostana* peel which has the antioxidant effect. The research aims to assess the effect of the *Garcinia mangostana* peel extract cream in reducing the MDA level in the skin of albino mice induced by the TPA. This was the experimental research using the experimental animals with the randomized post-test control group design being conducted on 35 female albino mice which were then divided into 7 treatment groups. The inflammatory model was performed by the TPA induction. The positive control was carried out with 1% hydrocortisone acetate. The concentrations of the *Garcinia mangostana* skin extract cream used were 2.5%, 5% and 10% The anti-oxidant effect was measured by examining MDA level as the antioxidant biomarker. Data were analysed with the Shapiro-Wilk, Mann-Whitney and Kruskal Wallis tests. The research result indicates that the MDA level shows the highest average value in the TPA treatment group. While, the MDA level shows the lowest average value in the treatment group with 10% GM extract. The mangosteen rind extract cream has the significant effect on reducing the MDA level ( $p < 0.05$ ). There is the significant difference in the MDA level in the TPA group compared with the hydrocortisone, 5% GM extract and 10% GM extract groups. It also indicates that the best concentration of the mangosteen rind extract cream in reducing the MDA level is obtained in the concentration of 10%.

It can be concluded that the *Garcinia mangostana* peel extract has the potential to be the alternative acute anti-oxidant agent on the skin.

Key words: *Garcinia mangostana*, antioxidant, TPA



## DAFTAR ISI

Halaman Judul .....	i
Lembar Pengesahan.....	iii
Pernyataan Keaslian karya Akhir.....	iv
Prakata .....	v
Abstrak .....	ix
Abstract .....	x
Daftar Isi .....	xi
Daftar Tabel.....	xiii
Daftar Grafik.....	xiv
Daftar Gambar .....	xv
Daftar Singkatan .....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.3.1 Tujuan Umum.....	7
1.3.2 Tujuan Khusus .....	7
1.4 Hipotesis Penelitian.....	8
1.5 Manfaat Penelitian .....	8
1.5.1. Manfaat Akademik .....	8
1.5.2. Manfaat praktis.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	9
2.1. Sress Oksidatif .....	9
2.2. Oksidan pada Kulit.....	14
2.3. Antioksidan pada Kulit .....	20
2.4. Manggis .....	23
2.5. Ekstrak Antioksidan kulit manggis .....	26
2.6. Malondialdehyde (MDA) .....	28
2.7. <i>12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)</i> .....	32
2.8. Kerangka Teori.....	36
2.9. Kerangka Konsep.....	36
Bab III METODE PENELITIAN .....	37

3.1. Rancangan penelitian .....	37
3.2 Waktu dan lokasi penelitian .....	37
3.3. Populasi Penelitian.....	37
3.4. Sampel Penelitian .....	38
3.4.1. Besar Sampel.....	38
3.4.2. Kriteria Sampel.....	39
3.4.2.1. Kriteria Inklusi.....	39
3.4.2.1. Kriteria Ekslusi .....	39
3.5. Alat dan Bahan.....	39
3.6. Prosedur penelitian .....	39
3.6.1. Pembuatan Model Binatang .....	39
3.6.2. Pembuatan ekstrak kulit Manggis .....	41
3.6.3. Pembuatan Krim Ekstrak Kulit Manggis.....	43
3.6.4. Pengenceran TPA .....	45
3.6.5. Pemeriksaan Malondialdehid (MDA) dengan ELISA.....	46
3.7. Skema Alur Penelitian .....	48
3.8. Variabel yang Diamati.....	49
3.9 Definisi Operasional dan Kriteria Obyektif .....	49
3.10 Pengolahan dan Analisis Data .....	51
3.11 Izin Penelitian dan Kelayakan Etik ( <i>Ethical Approval</i> ) .....	51
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....	52
4.1 Hasil Penelitian .....	52
4.1.1. Hasil Uji Kandungan $\alpha$ -Mangostin Dalam Ekstrak Kulit <i>Garcinia Mangostana</i> .....	53
4.1.2. Hasil Uji Kandungan $\alpha$ -Mangostin dalam Krim Ekstrak Kulit <i>Garcinia Mangostana</i> .....	53
4.2 Pembahasan.....	65
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	69
5.1 Kesimpulan .....	69
5.2 Saran.....	69
DAFTAR PUSTAKA.....	70
LAMPIRAN .....	85

## DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Formula Krim yang mengandung Ekstrak Kulit Manggis dalam berbagai konsentrasi (F1, F2, dan F3) dan Basis Krim. ....	44
Tabel 2.	Kandungan $\alpha$ – mangostin dalam ekstrak kulit manggis dianalisis menggunakan UPLC.....	54
Tabel 3.	Kandungan $\alpha$ – mangostin dalam krim ekstrak kulit manggis dianalisis menggunakan UPLC.....	54
Tabel 4.	Hasil analisis deskriptif kadar MDA pada berbagai kelompok perlakuan.....	55
Tabel 5.	Uji Perbandingan setiap kelompok tanpa perlakuan dengan kelompok perlakuan.....	57

## DAFTAR GRAFIK

Grafik 1. Analisis deskriptif MDA. ....	56
Grafik 2. Perbandingan rata-rata MDA pada kelompok TPA dan hidrokortison.....	59
Grafik 3. Perbandingan rata-rata MDA pada kelompok TPA dan base cream.....	60
Grafik 4. Perbandingan rata-rata MDA pada kelompok TPA dan GM 2.5% .....	61
Grafik 5. Perbandingan rata-rata MDA pada kelompok TPA dan GM 5% .....	62
Grafik 6. Perbandingan rata-rata MDA pada kelompok TPA dan GM 10% .....	63
Grafik 7. Perbandingan rata-rata MDA pada kelompok hidrokortison dengan GM 2.5%, GM 5%, dan GM 10% .....	64

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Sumber eksogen dan endogen <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS) .....	13
Gambar 2.	Generasi ROS dan pertahanan antioksidan dalam sel kulit	20
Gambar 3.	Aktivasi yang dimediasi ROS dari berbagai jalur pensinyalan sel di kulit.....	22
Gambar 4.	Pohon dan buah manggis.....	25
Gambar 5.	Struktur molekul berbagai senyawa bioaktif khususnya dari manggis xanthone (A – X), benzofenon (isogarsinol) (Y), flavonoid (epicatechin) (Z), dan procyanidin (AA) .....	25
Gambar 6.	Struktur kimia MDA.....	32
Gambar 7.	Struktur <i>Tetradecanoyl Phorbol-13-Acetate</i> .....	35
Gambar 8.	Kerangka Teori Penelitian .....	36
Gambar 9.	Kerangka Konsep Penelitian .....	36
Gambar 10.	Alur Penelitian .....	48

## DAFTAR SINGKATAN

GM	: <i>Garcinia mangostana</i>
TPA	: <i>Tetradecanoylphorbol acetate, tetradecanoyl phorbol acetate,</i>
UV A	: Ultraviolet A
UV B	: Ultraviolet B
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RNS	: <i>Reactive Nitrogen Species</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrogen Peroksida
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	: Anion Superoksida
4-HNE	: <i>4 hydroxinonenal</i>
AP-1	: Protein Aktivator 1
NF-κB	: <i>Nuclear Factor Kappa Beta</i>
MAPK	: Mitogen-activated protein kinase
AA	: Asam Arakidonat
IL	: <i>Interleukin</i>
GPx	: Glutathione Peroxidase
CAT	: Catalase
SOD	: Superoxide Dismutase
GSTs	: Glutathione S-transferases
JNK	: The c-Jun N-terminal kinase
TNF-α	: <i>Tumor necrosis factor-α</i>
COX-2	: cyclooxygenase-2
DPPH	: <i>2,2-difenil-1-pikrilhidrazil</i>
PKC	: Protein Kinase C
ERK	: extracellular signal-regulated kinase
PMA	: <i>Phorbol 12-miristat 13-asetat</i>
PMN	: <i>Polymorphonuclear leukocyte</i>
sel NK	: <i>Natural killer cells</i>
MMP	: <i>Matrix metalloproteinase-9</i>

M-CSF	: <i>Macrophage colony-stimulating factor</i>
GM-CSF	: <i>Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i>
NET	: <i>Neutrophil extracellular traps</i>
PMN	: <i>Polymorphonuclear neutrophils</i>
DLN	: <i>Doxorubicin "loaded" neutrophils</i>
EC	: <i>Endothelial cells</i>
WPB	: <i>Weibel-Palade bodies</i>
PGE2	: <i>Prostaglandin E2</i>
PKC	: <i>Protein kinase C</i>
COX	: <i>Cyclooxygenase</i>
5-LOX	: <i>5-lipoxygenase</i>
LTB4	: <i>Leukotriene B4</i>
cAMP	: <i>Cyclase cyclic adenosine monophosphate</i>
cGMP	: <i>Cyclic guanosine monophosphate</i>
TSPO	: <i>18-kDa translocator protein</i>

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 LATAR BELAKANG**

Kulit merupakan sistem organ terbesar tubuh yang berfungsi sebagai pelindung utama antara lingkungan internal dan eksternal. Salah satu fungsi utama kulit adalah membentuk pelindung penghalang fisik antara tubuh dan eksternal lingkungan sehingga akan terus-menerus terpapar lingkungan kimia dan polutan fisik.(Glance, 2019; Muliando, 2020) Sehingga kulit secara terus menerus melindungi tubuh dari rangsangan berbahaya, misalnya mikroorganisme, iradiasi ultraviolet (UV), alergen, dan iritasi. Paparan tersebut akan menyebabkan kondisi kulit rentan terkena stres oksidatif. Kondisi stres oksidatif yang terus-menerus dapat menjadi faktor risiko atau memperparah penyakit kulit.(Muliando, 2020)

Peran dan fungsinya yang khas adalah peran dari struktur dan susunannya, terutama pada bagian yang paling superfisial, yaitu epidermis. Komponen seluler utama epidermis termasuk keratinosit, tetapi ada juga melanosit, sel Merkel, limfosit T gamma delta, dan sel Langerhans. Keratinosit di lapisan basal epidermis mempertahankan kemampuannya untuk berkembang biak ke atas untuk membentuk lapisan spinosus dan lapisan granular. Di luar lapisan granular,

keratinosit akhirnya berdiferensiasi menjadi corneocytes di lapisan horny. Di bagian terluar epidermis, corneocytes (keratinosit kompak tanpa nuklei), bersama dengan kompartemen lamelar antar sel (lipid), berkontribusi pada struktur dan fungsi stratum korneum (SC).(Kuo *et al.*, 2019)

Berbagai racun polutan lingkungan atau metabolitnya secara langsung atau tidak langsung mendorong produksi berbagai oksidan reaktif yang juga dikenal sebagai reactive oxygen species (ROS). Pembentukan ROS yang terus-menerus akan menyebabkan kondisi stres oksidatif. Stres oksidatif adalah keadaan ketidakseimbangan antara pro-oksidan dan antioksidan disebabkan oleh pembentukan ROS yang melebihi kemampuan sistem pertahanan antioksidan. (Muliando, 2020)

Antioksidan berfungsi melindungi sel tubuh terhadap kerusakan oksidatif dan dapat mencegah produksi dari produk-produk oksidatif. Ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan, yaitu jika produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) melebihi kapasitas antioksidan, berpotensi menyebabkan kerusakan, yang disebut dengan stres oksidatif. Di antara *biomarker* (penanda) stres oksidatif yang paling sering digunakan sebagai parameter laboratorium adalah Malondialdehyde (MDA). MDA dapat dijumpai di plasma, serum dan urin. Peroksidasi lipid dan kerusakan seluler merupakan indikasi terjadinya stress oksidatif. Pada kondisi

kadar MDA yang turun biasanya disertai dengan peningkatan kadar antioksidan.(Khan *et al.*, 2012; Situmorang and Zulham, 2020)

Malondialdehyde (MDA) adalah senyawa dialdehyde yang merupakan produk akhir peroksidasi lipid dalam tubuh, melalui proses enzimatik atau non enzimatik. Konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel tubuh manusia memiliki suatu system antioksidan yang terorganisir, baik antioksidan enzimatik maupun antioksidan nonenzimatik yang bekerja secara sinergis. MDA sering digunakan dalam penelitian biomedis sebagai petanda stres oksidatif khususnya pada berbagai keadaan klinis yang berkaitan dengan proses peroksidasi lipid dikarenakan sifat MDA yang lebih stabil secara kimiawi. (Anggraeni, Setyaningrum and Listiawan, 2017; Jaisupa *et al.*, 2018)

TPA atau 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate atau yang dikenal sebagai ester phorbol adalah obat yang paling banyak digunakan untuk untuk memahami perubahan seluler dan molekuler yang terkait dengan karsinogenesis kulit serta untuk memahami peran peradangan, generasi spesies oksigen reaktif (ROS) dan hiperplasia dalam tahap terjadinya karsinogenesis kanker.(Khan *et al.*, 2013)(Park *et al.*, 2021). Selain itu TPA juga merupakan inflamagen kuat yang menimbulkan edema kulit dan respon seluler inflamasi sebagai respon terhadap infiltrasi neutrofil serta merupakan promotor tumor yang mempotensiasi hiperplasia epidermal dengan

memproduksi spesies oksigen reaktif (ROS) untuk menghasilkan stres oksidatif yang menyebabkan banyak penyakit pada manusia. Memang, ROS yang disebabkan oleh stres oksidatif memiliki efek merugikan pada kulit, seperti peroksidasi lipid membran, respons pro-inflamasi, dan pergantian struktur protein dan DNA, yang pada akhirnya menyebabkan kerusakan kulit, nekrosis, atau apoptosis dan menyebabkan bintik melanin, keriput, dan proses patologis kulit terkait usia. (Park *et al.*, 2021).

Namun, fungsi TPA masih kontroversial karena penurunan kapasitas proliferasi sel juga telah diamati pada sel limfoma yang diobati dengan TPA dibandingkan dengan kontrol. Oleh karena itu, efek yang berbeda dapat terjadi setelah terpapar TPA di berbagai jenis sel. (Zhu *et al.*, 2017)

Di sisi lain, buah manggis (*Garcinia mangostana L.*), merupakan tanaman semusim yang banyak dikonsumsi dan dapat ditemukan hampir di seluruh wilayah Indonesia. Sejak dulu kulit buah manggis banyak digunakan sebagai obat tradisional di Asia Tenggara untuk mengobati sakit perut, infeksi luka, peradangan, diare, disentri, dan ulkus kronis. Berbagai studi telah dilakukan yang melaporkan aktivitas biologis dan khasiat farmakologis yang luas dari pemanfaatan kulit buah manggis. Hal ini meliputi efek anti-inflamasi, anti-neoplastik, anti-oksidan, anti-proliferasi, anti-kanker, anti-malarial, anti-bakteri, anti-obesitas, neuroprotektif pada penyakit

Alzheimer, hepatoprotektif, dan kardioprotektif. Kulit manggis mengandung senyawa tannin, xanthone, isoflavonoid, flavonoid, dan bahan bioaktif lainnya. Saat ini manggis tidak hanya dimanfaatkan sebagai bahan pangan tetapi juga dimanfaatkan sebagai pangan fungsional, terutama kulit manggis yang memiliki kadar xanthone paling tinggi dibandingkan dengan bagian buah lainnya. Xanton merupakan senyawa bioaktif pada manggis yang memiliki banyak sifat farmakologis karena mengandung senyawa antioksidan yang sangat tinggi. Dimana antioksidan dibutuhkan oleh tubuh untuk mencegah radikal bebas serta meningkatkan kesehatan dan kekebalan tubuh. (Yurista *et al.*, 2012; Kusmayadi, 2021)

Dalam studi yang dilakukan Mokoagow dkk dengan menginduksi kulit mencit menggunakan TPA yang dioleskan sekali kemudian diberikan aplikasi krim ekstrak kulit GM, diamati efektivitas antiinflamasi dari topikal ekstrak kulit GM dengan untuk menilai efektivitas antiinflamasi dari ekstrak kulit *manggis* topikal pada kulit mencit yang diinduksi TPA dengan mengamati perubahan histopatologi (infiltrasi netrofil, ketebalan epidermis, edema, permeabilitas vaskular) memberikan hasil kelompok mencit dengan pemberian topikal krim konsentrasi 20% memberikan efek yang paling baik dimana didapatkan infiltrasi netrofil terendah dari semua kelompok perlakuan. Konsentrasi 10% memberikan hasil pemeriksaan ketebalan epidermis terendah. (Mokoagow, 2020)

Sedangkan, pada studi yang dilakukan oleh Komalasari dkk dalam menilai efek antiinflamasi pemberian ekstrak kulit manggis topikal dengan melihat kadar TNF- $\alpha$  menggunakan konsentrasi 2,5%, 5%, 10%, dan 20% pada mencit yang diinduksi TPA memperlihatkan bahwa kadar TNF- $\alpha$  ditemukan lebih rendah pada kelompok mencit yang diinduksi TPA dan diberikan krim ekstrak GM dengan konsentrasi 2,5% dibandingkan dengan kelompok kontrol TPA.(Komalasari, 2020)

Berdasarkan paparan diatas, maka pada penelitian ini, penulis akan melakukan pengamatan untuk menilai efek krim ekstrak kulit manggis terhadap kadar MDA pada kulit mencit yang diinduksi TPA agar efektif untuk mengurangi kadar stress oksidatif. Krim merupakan pilihan sediaan pada penelitian ini karena formulasi krim ekstrak manggis memiliki penetrasi pada kulit yang lebih baik. Selain itu, bentuk sediaan krim memiliki stabilitas yang baik dan penggunaannya praktis karena mudah terserap kulit, sehingga peneliti tertarik menformulasi sediaan dalam bentuk krim. Oleh karena itu, penelitian ini bermaksud menilai efektivitas anti oksidan konsentrasi ekstrak kulit GM yang diinduksi dengan TPA, agar dapat digunakan sebagai agen antiinflamasi alamiah, yang dapat dijadikan alternatif pengobatan antiinflamasi selain kortikosteroid topikal

## **1.2 RUMUSAN MASALAH**

Berdasarkan uraian pada latar belakang masalah di atas, maka disusun perumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah terdapat perbedaan kadar MDA pada telinga mencit albino yang diinduksi oleh TPA dan diberikan aplikasi krim ekstrak kulit *Garcinia Mangostana* dibandingkan dengan kelompok mencit albino yang hanya diinduksi oleh TPA?
2. Berapakah konsentrasi terbaik di antara 2,5%, 5%, dan 10% krim ekstrak kulit *Garcinia Mangostana* yang dapat memberikan perubahan pada kadar MDA kelompok mencit albino yang diinduksi oleh TPA?
3. Konsentrasi manakah di antara 2,5%, 5%, dan 10% krim ekstrak kulit *Garcinia Mangostana* yang dapat menyerupai efek terapi Hidrokortison asetat 1% pada kadar MDA kelompok mencit albino yang diinduksi oleh TPA?

## **1.3 TUJUAN PENELITIAN**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antioksidan pemberian krim ekstrak kulit *Garcinia Mangostana* topikal dengan mengamati kadar MDA pada mencit yang diinduksi TPA

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Untuk melihat kadar MDA pada kulit mencit yang diinduksi TPA.

2. Untuk melihat efek krim ekstrak *Garcinia Mangostana* dengan konsentrasi 2,5%, 5% dan 10% dalam menurunkan kadar MDA pada kulit mencit yang di induksi TPA.
3. Untuk melihat efek krim ekstrak *Garcinia Mangostana* 2,5%, 5% dan 10% dalam menurunkan kadar TNF- $\alpha$  pada kulit mencit yang di induksi TPA dibandingkan dengan krim hidrokortison asetat 1%.

#### **1.4 Hipotesis Penelitian**

Kadar MDA pada mencit albino yang diinduksi TPA kemudian diberikan aplikasi krim ekstrak kulit *Garcinia Mangostana* lebih rendah dibandingkan dengan kelompok mencit albino yang hanya diinduksi oleh TPA

#### **1.5 MANFAAT PENULISAN**

##### **1.5.1. Manfaat Akademik**

Menjadi sumbangan data ilmiah yaitu pemberian ekstrak kulit *Garcinia mangostana* topikal memiliki efek anti-oksidan pada mencit yang mendapat paparan TPA berdasarkan penilaian kadar MDA.

##### **1.5.2. Manfaat praktis**

Terbuktinya ekstrak kulit *Garcinia mangostana* mempunyai efek antioksidatif, sehingga limbah kulit manggis menjadi sebuah inovasi agen antioksidan alamiah.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 STRES OKSIDATIF**

Kulit merupakan organ terbesar dalam tubuh manusia, menjadi pembatas utama antara lingkungan luar dan tubuh, sehingga akan terus-menerus terpapar lingkungan kimia dan polutan fisik. Berbagai racun polutan lingkungan atau metabolitnya secara langsung atau tidak langsung mendorong produksi berbagai oksidan reaktif yang juga dikenal sebagai reactive oxygen species (ROS). Pembentukan ROS yang terus-menerus akan menyebabkan kondisi stres oksidatif. Stres oksidatif adalah keadaan ketidakseimbangan antara pro-oksidan dan antioksidan disebabkan oleh pembentukan ROS yang melebihi kemampuan sistem pertahanan antioksidan.

Stres oksidatif adalah fenomena yang disebabkan oleh ketidakseimbangan antara pro-oksidan dan antioksidan disebabkan oleh akumulasi ROS yang melebihi kemampuan sistem pertahanan antioksidan atau menurun, atau menetapnya kemampuan antioksidan. Pada kondisi fisiologis, antioksidan sebagai sistem pertahanan tubuh dapat melindungi sel dan jaringan melawan ROS ini. Sebuah postulat 'Teori Radikal Bebas' menyatakan bahwa, dengan terakumulasinya kerusakan akibat radikal bebas dan stres oksidatif, sejumlah proses biokimia dan proses seluler mulai berjalan

tidak normal.(Mulianto, 2020)

Kondisi ketidakseimbangan di mana jaringan tubuh tidak cukup mampu melawan sumber spesies oksigen reaktif baik eksogen maupun endogen. ROS memiliki beberapa peran fisiologis (pensinyalan sel), dan mereka biasanya dihasilkan sebagai produk sampingan dari metabolisme oksigen; meskipun demikian, stresor lingkungan (sinar UV, radiasi ion, polutan, dan logam berat) dan xenobiotik obat antitumor sangat berkontribusi dalam meningkatkan produksi ROS, sehingga menyebabkan ketidakseimbangan yang mengarah pada kerusakan sel dan jaringan (stres oksidatif). Beberapa antioksidan telah dieksplorasi selama beberapa tahun terakhir untuk efek menguntungkan terhadap stres oksidatif, seperti vitamin E, flavonoid, dan polifenol. (Pizzino *et al.*, 2017) Stres oksidatif sangat terkait dengan penuaan, baik lokal maupun sistemik, serta berbagai kondisi kesehatan lokal. Penuaan kulit disebabkan oleh mekanisme intrinsik dan ekstrinsik. Penuaan kulit intrinsik merupakan proses normal penuaan untuk semua jaringan, sedangkan penuaan ekstrinsik terutama disebabkan oleh paparan radiasi UV, polusi, dan merokok. (Trüeb, 2021)

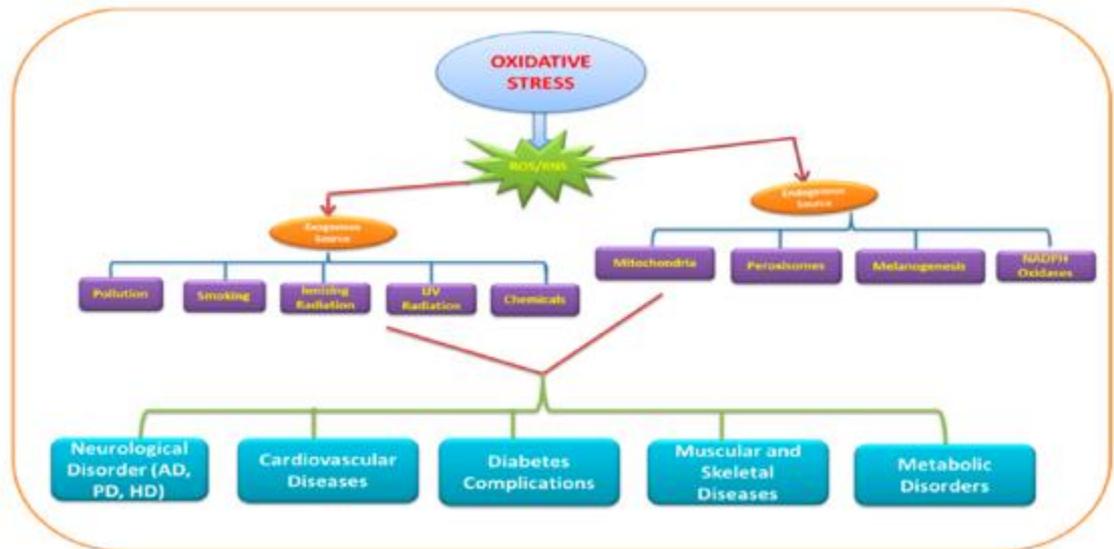
Produksi ROS pada dasarnya bergantung pada reaksi enzimatik dan nonenzimatik. Reaksi enzimatik yang dapat menghasilkan ROS adalah yang terlibat dalam rantai respirasi, sintesis prostaglandin, fagositosis, dan sistem sitokrom P450 Radikal

superoksida ( $O_2 \bullet^-$ ) yang dihasilkan oleh NADPH oksidase, xanthine oxidase, dan peroksidase. Setelah terbentuk radikal superoxide, akan terjadi beberapa reaksi yang akan menghasilkan hidrogen peroksida, radikal hidroksil ( $OH\bullet$ ), peroksinitrit ( $ONOO^-$ ), asam hipoklorit ( $HOCl$ ), dan sebagainya.  $H_2O_2$  (suatu nonradikal) diproduksi oleh beberapa enzim oksidase, yaitu asam amino oksidase dan xantin oksidase. Radikal hidroksil ( $OH\bullet$ ), yang paling reaktif di antara semua spesies radikal bebas in vivo, dihasilkan oleh reaksi  $O_2 \bullet^-$  dengan  $H_2O_2$ , dengan  $Fe^{2+}$  atau  $Cu^+$  sebagai katalis reaksi (reaksi Fenton). Radikal oksida nitrat ( $NO\bullet$ ), yang memainkan beberapa peran fisiologis penting, disintesis dari oksidasi arginin-ke-sitrulin oleh nitric oxide synthase (NOS). Reaksi nonenzimatik dapat bertanggung jawab untuk produksi radikal bebas, yaitu ketika oksigen bereaksi dengan senyawa organik atau ketika sel terkena radiasi ion. Produksi radikal bebas nonenzimatik dapat terjadi juga selama respirasi mitokondria. (Pizzino *et al.*, 2017)

Radikal bebas dihasilkan dari sumber endogen dan eksogen. Aktivasi sel kekebalan, peradangan, iskemia, infeksi, kanker, olahraga berlebihan, stres mental, dan penuaan semuanya bertanggung jawab atas produksi radikal bebas endogen. Produksi radikal bebas eksogen dapat terjadi sebagai akibat dari paparan polutan lingkungan, logam berat (Cd, Hg, Pb, Fe, dan As), obat-obatan tertentu (siklosporin, tacrolimus, gentamisin, dan bleomisin),

pelarut kimia, memasak (daging asap, oli bekas, dan lemak), asap rokok, alkohol, dan radiasi. Ketika senyawa eksogen ini menembus tubuh, akan terdegradasi atau dimetabolisme, dan radikal bebas dihasilkan sebagai produk sampingan.(Pizzino *et al.*, 2017)

ROS secara signifikan berkontribusi pada kerusakan sel saraf melalui modulasi fungsi biomolekul. Spesies ini menargetkan biomolekul yang berbeda (DNA, RNA, lipid, dan protein) dan proses (oksidasi asam nukleat, peroksidasi lipid) di dalam sel. Otak mengkonsumsi sejumlah besar oksigen untuk berfungsi dengan baik, dan dapat dianggap sebagai pabrik radikal bebas/spesies oksigen reaktif (ROS) serta hotspot neurodegenerasi. ROS yang terlibat dalam neurodegenerasi termasuk hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), anion superoksida ( $O_2^-$ ), dan radikal hidroksil yang sangat reaktif ( $H_2O$ ). Spesies nitrogen reaktif (RNS) seperti oksida nitrat (NO) juga ditemukan memiliki efek merusak pada neuron. Gambar 1 menggambarkan sumber dan penyakit eksogen maupun endogen yang disebabkan oleh ROS/RNS.(Singh *et al.*, 2019)



**Gambar 1.** Menggambarkan sumber eksogen dan endogen *Reactive Oxygen Species (ROS) / Reactive Nitrogen Species (RNS)* dan penyakit. PD - *Parkinson Disease*; AD – *Alzheimer Disease*; HD – *Huntington Disease*.(Singh et al., 2019)

Stress oksidatif menyebabkan terjadinya disfungsi mitokondria sehingga menimbulkan kekurangan energi seluler, akumulasi mediator sitotoksik, dan kerusakan seluler. Otak sangat rentan terhadap kerusakan yang diakibatkan oleh stress oksidatif melalui ROS. Sel glia memerlukan lebih banyak oksigen dan glukosa agar memasok suplai ATP yang diperlukan dalam menjaga fungsi otak yang normal sehingga sangat rentan terhadap overload oksigen dan timbulnya ROS. Neuron sangat sensitif terhadap ROS, karena komposisi biokimia dari neuron terdiri dari asam lemak yang tinggi sehingga rentan terjadi peroksidasi lemak dan modifikasi oksidatif. Ikatan ganda dari asam lemak tak jenuh merupakan target dari radikal bebas sehingga timbul kaskade kerusakan asam lemak disekitarnya. Membran lipid mengalami oksidasi menghasilkan MDA

dan 4 *hydroxynonenal* (4-HNE) yang toksik terhadap neuron (Butterfield *et al.*, 2009; Antara, 2018).

## 2.2 OKSIDAN PADA KULIT

Paparan kulit terhadap pengion dan radiasi UV dan atau xenobiotik atau obat yang menghasilkan ROS dalam jumlah berlebihan yang pada jaringan antioksidan dan jalur pendegradasi oksidan lainnya. Pelepasan ROS yang tidak terkontrol terlibat dalam patogenesis sejumlah kelainan kulit manusia termasuk neoplasia kulit. Agen yang menghasilkan stres oksidatif pada kulit termasuk gas polutan lingkungan udara yang dihasilkan oleh mobil dan sumber industri lainnya, radiasi UV, kontaminan makanan / aditif / pengawet, produk kosmetik, obat-obatan, dll. Selain itu, intermediet jalur heme mungkin memiliki efek prooksidan, sedangkan heme oksigenase, enzim yang mendegradasi heme, dapat berfungsi sebagai antioksidan dan pro-oksidan.(Bickers and Athar, 2006) Banyak dari agen ini secara intrinsik dapat menghasilkan ROS atau metabolitnya seperti kuinon aktif redoks, beberapa di antaranya mungkin terlibat dalam patogenesis berbagai kelainan kulit.

Kulit menjadi target utama stres oksidatif karena spesies reaktif terus dihasilkan dalam keratinosit sebagai respons terhadap lingkungan dan agen endogen oksidan. (Muliando, 2020)Aktivitas fisik dan stres psikologis juga dapat menimbulkan stres oksidatif

pada kulit. Peningkatan kadar radikal bebas dapat mengganggu mekanisme pertahanan antioksidan kulit dan berkontribusi pada gangguan kulit sehingga menyebabkan peningkatan ROS di kulit yang dapat mendorong perkembangan penyakit dermatologis.(Bickers and Athar, 2006)

Pada Gambar 2, kami telah merangkum berbagai reaksi biokimia in situ yang menghasilkan atau memblokir produksi oksidan untuk mempertahankan kontrol homeostatik keadaan redoks intraseluler; ketidakseimbangan pada akhirnya dapat menyebabkan stres oksidatif dan cedera jaringan. Dalam penelitian sebelumnya, kami menunjukkan bahwa kulit memiliki mesin enzimatik untuk mengubah xenobiotik yang sangat hidrofobik dan sebaliknya inert seperti hidrokarbon aromatik polinuklear menjadi spesies reaktif melalui metabolisme oksidatif yang dikatalisis oleh keluarga besar enzim yang mengandung heme yang dapat diinduksi, yang dikenal sebagai sitokrom P450s. Kami dan yang lainnya juga telah menunjukkan bahwa paparan kulit terhadap sejumlah agen lingkungan kimia dan fisik menginduksi stres oksidatif yang mengarah pada induksi peroksidasi lipid kulit dengan modulasi bersamaan dalam tingkat antioksidan dan enzim metabolisme obat.

Ditunjukkan juga bahwa ROS menginduksi sejumlah faktor transkripsi seperti protein aktivator 1 (AP-1) dan NF- $\kappa$ B. Penyinaran UVA dari fibroblas kulit melepaskan besi labil, yang terlibat dalam

aktivasi NF- $\kappa$ B. Selain itu, mitogen-diaktifkan jalur protein kinase (MAPK) adalah target stres oksidatif. Sangat menarik untuk dicatat bahwa radiasi UV matahari, penyebab utama stres oksidatif pada kulit, juga mempengaruhi jalur ini dengan cara yang sangat mirip dengan ROS. Pada Gambar 2, efek ROS dan UVA/UVB matahari pada pensinyalan sel di kulit yang mungkin terlibat dalam patogenesis berbagai penyakit kulit dirangkum. Kami telah menunjukkan bahwa UVB menginduksi perubahan siklus sel dalam keratinosit epidermis mirip dengan yang ditimbulkan oleh ROS. Selain itu, pemberian parenteral berbagai antioksidan dapat membalikkan perubahan yang diinduksi UVB dalam profil siklus sel dan protein pengatur siklus sel. Demikian pula, baik UVB dan ROS menginduksi apoptosis pada keratinosit dengan mengubah permeabilitas membran mitokondria. Jalur penting lain yang mendorong peradangan kulit adalah eicosanoids, yang dihasilkan dari asam arakidonat (AA) oleh enzim prostaglandin H sintetase yang menghasilkan hidroksil-endoperoksida. Aktivitas peroksidase dari enzim ini dapat menyebabkan ko-oksidasi berbagai substrat, termasuk hidrokarbon aromatik polisiklik, yang menjadi sangat reaktif dan kemudian dapat berinteraksi langsung dengan makromolekul termasuk DNA. Eicosanoids termasuk prostaglandin dan leukotrien adalah mediator inflamasi yang penting (lihat di bawah). Enzim pro-oksidan lain yang ada di kulit dikenal sebagai sintase oksida nitrat

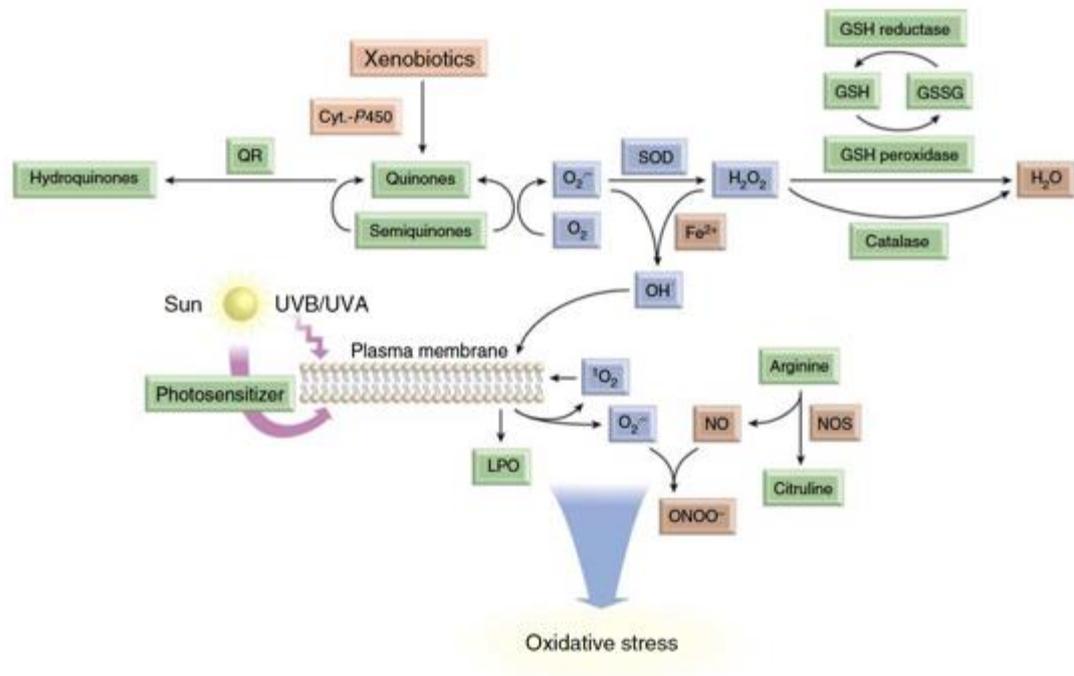
yang dapat diinduksi, yang diinduksi dalam infiltrasi leukosit dan sel fagositik lainnya, dan menghasilkan NO. Seperti disebutkan di atas, NO berinteraksi dengan ROS yang dihasilkan selama ledakan pernapasan untuk membentuk ONOO<sup>-</sup>, spesies reaktif yang sangat tidak stabil yang dapat merusak DNA sehingga menghasilkan mutasi titik, penghapusan, atau penataan ulang. Asam urokanat adalah molekul lain di kulit yang mengikuti paparan UVB mengalami isomerisasi cis-trans dan kemungkinan terlibat dalam efek immunosupresif serta photoaging dari sinar matahari. Spektrum penyerapan asam urokanat cocok dengan spektrum aksi untuk immunosupresi yang diinduksi UVB dan dikaitkan dengan pengurangan jumlah sel Langerhans epidermis. Asam urokanat juga dikenal untuk memperpanjang waktu kelangsungan hidup cangkuk kulit, dan mempengaruhi aktivitas sel pembunuh alami. Menilai peningkatan produksi 5 $\alpha$ -kolesterol hidroperoksida, penanda generasi <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, mengungkapkan bahwa iradiasi UVA asam trans-urocanic menghasilkan <sup>1</sup>O<sub>2</sub>. Diketahui juga, bahwa <sup>1</sup>O<sub>2</sub> dapat memulai pensinyalan c-jun N-terminal kinase (JNK), yang mengarah pada induksi kolagenase interstisial serta sintesis sitokin proinflamasi seperti IL-1 dan IL-6 dalam fibroblas yang diiradiasi UVA. Namun, respons ini dapat dimodulasi oleh kromofor yang dihasilkan secara endogen seperti nicotinamide adenine dinucleotide (bentuk tereduksi) / nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

(bentuk tereduksi), triptofan, riboflavin, dll. (Bickers and Athar, 2006)

Sel kulit normal menghasilkan ROS seperti anion superoksida ( $O_2^{\cdot-}$ ) dan  $H_2O_2$  sebagai akibat dari metabolisme normal. Baik  $O_2^{\cdot-}$  dan  $H_2O_2$  dapat diubah menjadi radikal hidroksil yang sangat reaktif ( $OH^{\cdot}$ ) oleh reaksi Haber-Weiss dan Fenton yang dikatalisis besi ( $Fe^{2+}$ ). Demikian pula, spesies nitrogen reaktif (RNS) dihasilkan sebagai hasil dari reaksi berurutan yang dimulai dengan konversi arginin menjadi citrulline yang dimediasi nitric oxide synthase (NOS). Dalam reaksi ini, NO dihasilkan, yang bereaksi dengan  $O_2^{\cdot-}$  untuk menghasilkan peroksinitrit ( $ONOO^-$ ). (Bickers and Athar, 2006)

Demikian pula, ROS dan RNS dapat terbentuk sebagai akibat dari paparan agen lingkungan termasuk bahan kimia (xenobiotik) dan UVA dan UVB matahari. Banyak xenobiotik diubah menjadi kuinon beracun oleh keluarga enzim terkait fungsional yang dikenal sebagai sitokrom P450 (CYP). Kuinon ini adalah agen peka redoks dan direduksi secara reversibel menjadi semihidrokuinon / hidrokuinon, yang menghasilkan  $O_2^{\cdot-}$ . Baik UVA dan UVB menghasilkan radikal bebas dan/atau oksigen tunggal ( $^1O_2$ ) yang serupa baik secara langsung setelah interaksi dengan komponen seluler atau dengan adanya agen kimia yang dikenal sebagai fotosensitizer. Bahan kimia fotoaktif ini saat dalam energi atau keadaan dasar terendah menyerap radiasi insiden (termasuk UVA/UVB), dalam spektrum penyerapannya. Energi foton yang diserap menciptakan molekul

keadaan tereksitasi, yang sangat tidak stabil dalam kondisi sekitar. Dalam kembali ke keadaan dasar, spesies yang tereksitasi mentransfer energi ke bagian kimia intraseluler yang berdekatan terutama oksigen molekuler ( $O_2$ ) dan dengan demikian mengubahnya menjadi ROS. ROS ini berinteraksi dengan membran plasma kaya lipid dan memulai reaksi yang dikenal sebagai peroksidasi lipid. Banyak enzim intraseluler berfungsi untuk mendegradasi spesies reaktif ini. Beberapa dari enzim ini spesifik seperti SODs, yang mendismutasikan  $O_2^{\cdot-}$  menjadi  $H_2O_2$ , sedangkan yang lain memiliki afinitas substrat yang tumpang tindih seperti katalase dan glutathione peroksidase, keduanya dapat mendegradasi  $H_2O_2$  menjadi air dan  $O_2$  tetapi glutathione peroksidase juga mendegradasi peroksida organik menjadi relatif spesies alkohol yang tidak beracun. Enzim-enzim ini juga membutuhkan GSH selama proses degradasi peroksida dan mengubah GSH menjadi bentuk teroksidasinya, yang didaur ulang oleh enzim glutathione reduktase. Demikian pula, kuinon beracun diubah menjadi hidrokuinon yang relatif kurang beracun oleh kuinon reduktase (QR). (Bickers and Athar, 2006)



**Gambar 2.** Generasi ROS dan pertahanan antioksidan dalam sel kulit (Bickers and Athar, 2006)

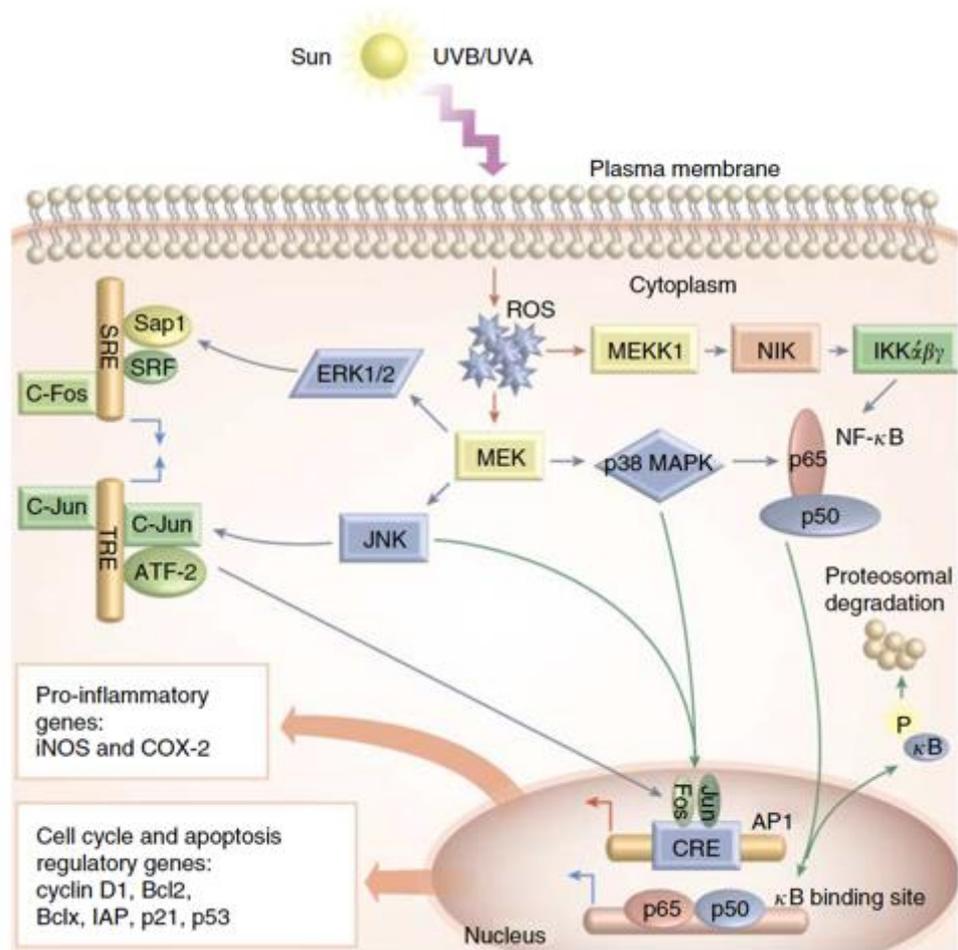
### 2.3 ANTIOKSIDAN PADA KULIT

Mekanisme Keseimbangan dan Pertahanan Sel dimana Tubuh manusia memiliki sistem keseimbangan antioksidan yang terorganisir, baik antioksidan enzimatik maupun antioksidan non-enzimatik, yang bekerja sinergis. Antioksidan melindungi sel tubuh terhadap kerusakan oksidatif dan dapat mencegah produksi produk-produk oksidatif. Pada sistem pertahanan enzimatik, glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT), dan superoxide dismutase (SOD) memainkan peranan utama. Di sisi lain, sel dan plasma memiliki free radical scavengers non-enzimatik seperti asam askorbat (vitamin C), alphotocopherol (vitamin E), dan kelompok sulfhidril. (Mulianto, 2020)

Molekul antioksidan di kulit berinteraksi dengan ROS atau produk sampingannya untuk menghilangkannya atau meminimalkan efek merusaknya. Molekul antioksidan ini termasuk glutathione (GSH), alpha-tocopherol atau vitamin E, asam askorbat atau vitamin C, glutathione peroxidases, glutathione reduktase, glutathione S-transferases (GSTs), superoxide dismutases (SODs), katalase, dan quinone reductase. GSH dan asam askorbat merupakan antioksidan larut, sedangkan vitamin E terikat membran dan mampu mencegah reaksi berantai yang diperantarai radikal bebas. GSH hadir dalam konsentrasi milimolar di hampir semua sel normal. Namun, mutasi langka pada manusia gen yang mengkode enzim glutamat-sistein ligase, glutathione sintase, dan g-glutamil transferase dalam siklus g-glutamil dapat menurunkan kadar GSH jaringan dan darah. Pada hewan percobaan, penipisan GSH jaringan dapat diinduksi dengan pemberian dua model senyawa kimia, dietil maleat dan phorone. Selain itu, l-butionin-(S,R)-sulfoximine, penghambat glutamat-sistein ligase, memiliki efek yang sama. Penipisan tripeptida ini menambah cedera oksidan, sedangkan pemberian agen yang meningkatkan kadar GSH jaringan seperti N-asetil sistein atau 4-oxothiazoladine carboxylate memberikan perlindungan terhadap efek toksik dari agen penghasil ROS. Juga telah ditunjukkan bahwa berbagai non-phorbol ester serta promotor tumor phorbol ester dan UVB mendorong produksi ROS dikulit murine). Telah dipostulasikan

bahwa pasien dengan keratosis aktinik dan karsinoma sel basal (BCC), jenis kanker kulit non-melanoma yang paling umum, mengalami penurunan kadar enzim antioksidan dalam plasma / serum. Selanjutnya, SOD CuZnSOD dan MnSOD menurun pada kanker kulit non-melanoma manusia. (Bickers and Athar, 2006)

Sebagai hasil dari pembentukan ROS yang dimediasi UVA / UVB selama patogenesis berbagai penyakit kulit, sejumlah jalur pensinyalan diaktifkan. ROS mendorong aktivasi MAPK, yang paling penting adalah ERK, JNK, dan p38 kinase. ERK dan JNK penting dalam merekrut c-Fos dan c-Jun ke nukleus di mana mereka mengaktifkan faktor transkripsi AP-1, sedangkan aktivasi p38 dan penghambatan kappa kinase (IKK) penting dalam aktivasi transkripsi NF-kB. Kedua faktor ini penting dalam mengatur beragam gen, yang memainkan peran kunci dalam patogenesis peradangan (seperti iNOS, COX-2), dan dalam pengaturan siklus sel, proliferasi, dan apoptosis (cyclin D1, Bcl2, Bclx, IAP, p21, p53, dll.). Seperti tersaji pada gambar di bawah ini



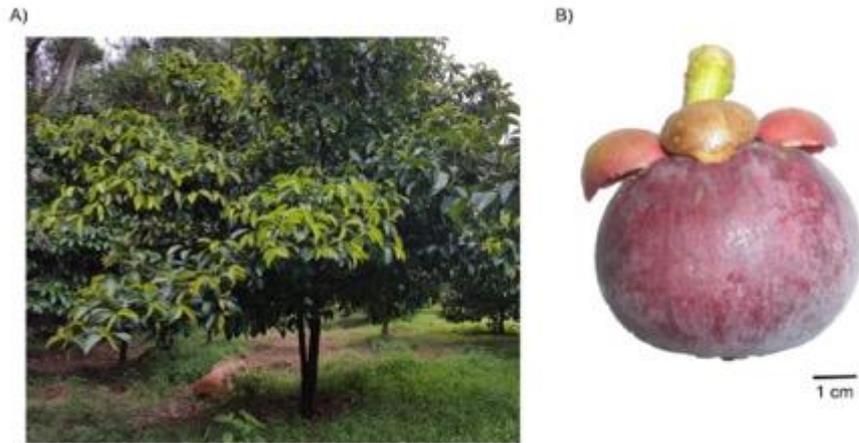
**Gambar 3.** Aktivasi yang dimediasi ROS dari berbagai jalur pensinyalan sel di kulit (Bickers and Athar, 2006)

## 2.4 MANGGIS

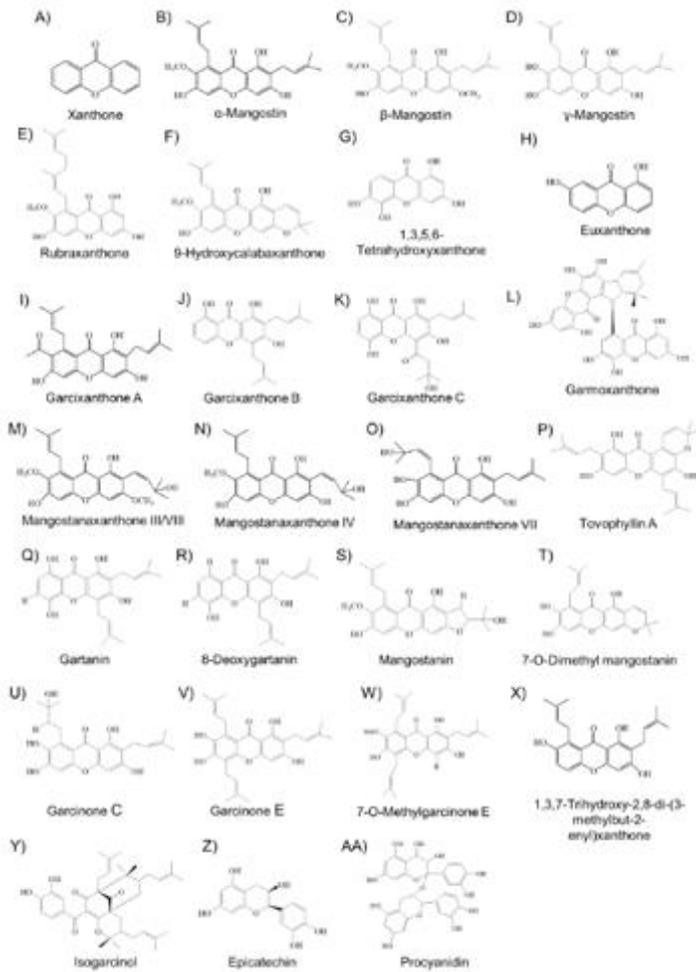
*Garcinia mangostana* L. (manggis, Clusiaceae) telah lama digunakan sebagai tanaman obat, terutama di Asia Tenggara. Secara tradisional manggis terkenal dengan sifat antiinflamasi dan digunakan dalam pengobatan infeksi kulit dan luka. Aplikasi lain termasuk terapi berbagai kondisi seperti disentri, berbagai gangguan kemih, sistitis dan gonore. Buah dari *G. mangostana* adalah bagian yang paling berharga dari tanaman ini dan terkenal dengan rasa

yang sangat menyenangkan. Oleh karena itu, manggis bahkan dinobatkan sebagai “Queen of tropical fruits”. Kulit buah *G. mangostana* telah digunakan selama ratusan tahun di seluruh dunia, sebagian besar di Asia Tenggara, sebagai obat untuk berbagai macam kondisi medis. Selama beberapa dekade terakhir, ditunjukkan bahwa manggis mengandung xanthone dalam jumlah tinggi, kelas senyawa polifenol yang terbukti memiliki aktivitas biologis yang signifikan dalam sistem *in vitro*. (Goud, Prasad and Kumar, 2019)

Buah manggis menunjukkan beberapa sifat farmakologis, termasuk antioksidan, antiproliferatif, anti-inflamasi dan antikarsinogenik. Xanthone merupakan senyawa polifenol yang banyak terdapat pada kulit buah manggis yang mengandung - mangostin (69,01%) sebagai senyawa xanthone mayor diikuti oleh - mangostin (17,86%), sedangkan senyawa xanthone minor (13,13%) antara lain gartanin, 8-deoxygartanin, garcinon E, 1,7-dihidroksi-3-metoksi-2-(3-metilbut-2-enil) xanthone, dan 1,3,7-tri-hydroxy-2,8-di (3-methylbut-2-enyl)-xanthone. -mangostin adalah senyawa polifenol hidrofobik yang menyumbang potensi antioksidan unggul. (Mohammad *et al.*, 2019) (Aizat *et al.*, 2019)



**Gambar 4.** Pohon dan buah manggis. (Aizat *et al.*, 2019)



**Gambar 5.** Struktur molekul berbagai senyawa bioaktif khususnya dari manggis xanthone (A – X), benzofenon (isogarsinol) (Y), fl avonoid (epicatechin) (Z), dan procyanidin (AA). (Aizat *et al.*, 2019)

## **2.5 EFEK ANTIOKSIDAN KULIT MANGGIS**

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) merupakan tanaman tropis yang termasuk dalam famili Guttiferae (dikenal juga dengan nama Clusiaceae). Kulit buahnya mengandung beberapa fitokimia termasuk senyawa fenolik yang terutama menunjukkan sifat antioksidan dan telah digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati beberapa penyakit. Selain itu, ekstrak kulit manggis telah dilaporkan memiliki sifat antimikroba, antiproliferasi, dan antikanker. Senyawa bioaktif utama yang terdapat pada kulit manggis adalah xanthone (senyawa nonpolar), flavonoid, dan condensed tannins atau proanthocyanidins (senyawa polar). Flavonoid dan proanthocyanidins bertindak sebagai agen antioksidan, dan mereka melindungi terhadap kerusakan oksidatif dan memiliki banyak manfaat kesehatan. Studi sebelumnya telah melaporkan aktivitas xanthone atau konstituen nonpolar lainnya, sedangkan aktivitas konstituen polar jarang dijelaskan. Oleh karena itu, studi tentang fraksi polar dari kulit manggis menjadi menarik. Fraksi polar kulit manggis telah terbukti memiliki efek antioksidan dan sitoprotektif. Misalnya, fraksi nonpolar ekstrak kulit manggis yang mengandung xanthone menunjukkan aktivitas sitotoksik, sedangkan fraksi polar ekstrak kulit manggis menimbulkan aktivitas antioksidan kuat. Administrasi ekstrak kulit manggis menghasilkan peningkatan fungsi kognitif pada model hewan yang diinduksi skopolamin demensia, dan

menunjukkan penurunan stres oksidatif dalam darah utuh dan sel darah merah manusia sehat. Selain itu, pengobatan dengan ekstrak kulit manggis melindungi sel saraf dari sitotoksitas yang diinduksi beta-amiloid, dan melindungi sel SK-N-SH dari stres oksidatif yang diinduksi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Meskipun aktivitas antioksidan ekstrak kulit manggis telah dilaporkan, efek fitokimia yang terkandung dalam ekstrak kulit manggis pada produksi enzim antioksidan, termasuk aktivitasnya dalam sel belum sepenuhnya ditentukan. (Jaisupa *et al.*, 2018)

Sánchez-Pérez dkk. (2010) menunjukkan peran protektif -mangostin dalam cisplatin (Platinol) yang menyebabkan kematian sel terprogram dengan menghambat ekspresi p53 (gen penekan tumor) dan pembentukan radikal bebas. Buelna-Chontal dkk. (2011) menunjukkan efektivitas -mangostin terhadap kerusakan reperfusion jantung dengan mengurangi area infark. Selain itu, menghambat penurunan kadar adenosin trifosfat jantung (ATP) dan fosfokreatin pada miokardium yang mengalami reperfusion. Ekstrak kulit manggis dapat diberikan sebagai bahan tambahan makanan karena sifat antioksidannya, yang meningkatkan umur simpan makanan dengan cara menghindari peroksidasi lipid. Ini juga dapat digunakan sebagai ledakan oksidatif pelindung dalam sistem kehidupan. (El-Kenawy, Hassan and Osman, 2018)

Aktivitas antioksidan ditunjukkan 8-hydroxycudraxanthone,

gartanin, -mangostin, -mangostin dan smeachxanthone. Ekstrak G. mangostana dilaporkan memiliki aksi antioksidan yang sangat baik dalam uji radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Ekstrak tersebut menghambat 50% radikal bebas pada konsentrasi 6,13 g/mL. Selain itu, ekstrak ini menunjukkan penghambatan yang tinggi pada produksi TNF- $\alpha$  yang dihasilkan dari sel mononuklear darah perifer (PBMC) yang distimulasi dengan *Propionibacterium acnes*. Oleh karena itu tanaman ini diklaim memiliki efek antiinflamasi yang luar biasa dan dapat mengurangi kerusakan sel. Karya lain yang menunjukkan sifat antioksidan tinggi dari xanthone diterbitkan oleh Williams et al. (1995).

## **2.6 MALONDIALDEHYDE (MDA)**

Malondialdehid (MDA) adalah senyawa dialdehid yang merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid, yang menyebabkan kerusakan jaringan dan oleh karena itu dapat digunakan sebagai indikator stres oksidatif. (Altun *et al.*, 2018) Peroksidasi lipid dan kerusakan seluler merupakan indikasi terjadinya stress oksidatif. Konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel tubuh manusia memiliki suatu sistem antioksidan yang terorganisir, baik antioksidan enzimatik maupun antioksidan nonenzimatik yang bekerja secara sinergis. Sedangkan pada kondisi kadar MDA yang turun biasanya disertai dengan

peningkatan kadar antioksidan.(Bickers and Athar, 2006; Mulianto, 2020)

Di antara *biomarker* (penanda) stres oksidatif yang paling sering digunakan sebagai parameter laboratorium adalah malondialdehyde. MDA dapat dijumpai di plasma, serum dan urin sebagai penanda terjadinya kerusakan jaringan akibat radikal bebas *in vivo*. Sifat MDA yang lebih stabil secara kimiawi membuat senyawa ini lebih sering digunakan sebagai petanda stres oksidatif dibanding senyawa lain. Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa MDA merupakan komponen pengukuran peroksidasi lipid yang bersifat stabil dan akurat dan telah membantu menjelaskan peranan stres oksidatif pada sejumlah penyakit termasuk penyakit kulit. (Bickers and Athar, 2006; Mulianto, 2020)

Malondialdehid, sebagai indikator tidak langsung dari stres oksidatif, menginformasikan tentang tingkat kerusakan membran plasma akibat aksi radikal bebas. Malondialdehida banyak digunakan sebagai penanda untuk mengukur tingkat peroksidasi lipid untuk mengevaluasi kerusakan oksidatif eritrosit. Hasil yang diperoleh menunjukkan gangguan keseimbangan oksidatif, yang dimanifestasikan oleh peningkatan produk peroksidasi lipid. (Cwynar *et al.*, 2018)

Malondialdehid merupakan produk peroksidasi lipid yang merupakan aldehid reaktif, merupakan spesies elektrofil reaktif yang

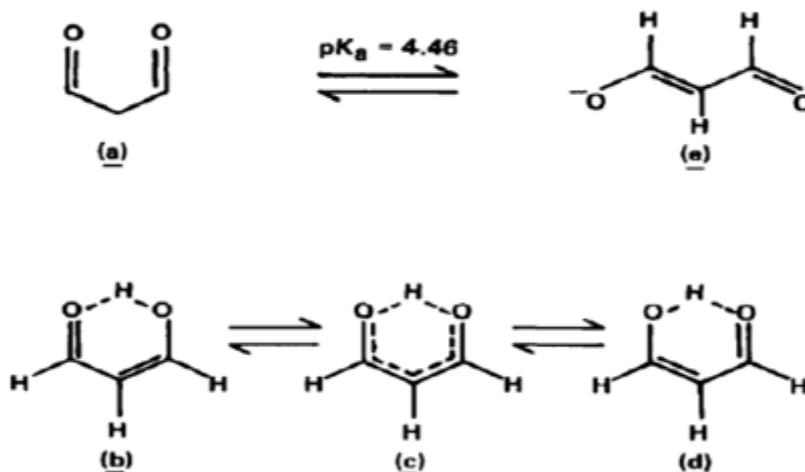
menyebabkan stres toksik pada sel dan membentuk produk protein kovalen yang dikenal sebagai advanced lipoxidation end products (ALE). MDA dapat bereaksi dengan deoksiguanosin dan deoksiadenosin pada DNA membentuk substansi M1G yang bersifat mutagenik.

Malondialdehid dibentuk sebagai bahan dikarbonil ( $C_3H_4O_2$ ) dengan berat molekul rendah (berat formula = 72,07), rantai pendek, dan bersifat volatil asam lemah ( $pK_a = 4,46$ ), dihasilkan sebagai produk sampingan pembentukan eikosanoid enzimatis dan produk akhir degradasi oksidatif asam lemak bebas non-enzimatis (Gambar 3).

Malondialdehid adalah produk dekomposisi PUFA peroksidasi. Analisis MDA merupakan analisis radikal bebas secara tidak langsung dan cukup mudah untuk menentukan jumlah radikal bebas yang terbentuk. Analisis radikal bebas secara langsung sangat sulit karena senyawa radikal ini sangat tidak stabil dan cenderung merebut elektron senyawa lain agar lebih stabil. Reaksi ini berlangsung sangat cepat, sehingga pengukurannya sangat sulit.

Malondialdehid ditemukan hampir di seluruh cairan biologis, termasuk plasma, urin, cairan sendi, cairan bronkoalveolar, cairan empedu, cairan getah bening, cairan mikrodialisis, dari berbagai organ, cairan amnion, cairan perikardial, dan cairan seminal. Plasma dan urin merupakan sampel yang paling umum digunakan karena

paling mudah didapat dan paling tidak invasif. Hingga saat ini MDA merupakan marker yang paling banyak diteliti, dianggap sebagai marker peroksidasi lipid in vivo yang baik, baik pada manusia maupun pada binatang, yang signifikan akurat dan stabil dibandingkan senyawa lainnya. Malondialdehid sangat cocok sebagai biomarker untuk stres oksidatif karena beberapa alasan, yaitu: (1) Pembentukan MDA meningkat sesuai stres oksidatif, (2) Kadarnya dapat diukur secara akurat dengan berbagai metode, (3) Bersifat stabil dalam sampel cairan tubuh yang diisolasi, (4) Tidak dipengaruhi oleh variasi diurnal dan tidak dipengaruhi oleh kandungan lemak diet, (5) Merupakan produk spesifik dari peroksidasi lemak, (6) Terdapat dalam jumlah yang dapat dideteksi pada semua jaringan tubuh dan cairan biologis, sehingga memungkinkan untuk menentukan referensi interval. (Muliato, 2020)



**Gambar 6.** Struktur kimia MDA

## **2.7 12-O-TETRADECANOLPHORBOL-13 ACETATE (TPA)**

TPA atau 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate atau yang dikenal sebagai ester phorbol adalah obat yang paling banyak digunakan untuk memahami perubahan seluler dan molekuler yang terkait dengan karsinogenesis kulit serta untuk memahami peran peradangan, generasi spesies oksigen reaktif (ROS) dan hiperplasia dalam tahap terjadinya karsinogenesis kanker. (Khan *et al.*, 2013)(Park *et al.*, 2021). Selain itu TPA juga merupakan inflamagen kuat yang menimbulkan edema kulit dan respon seluler inflamasi sebagai respon terhadap infiltrasi neutrofil serta merupakan promotor tumor yang mempotensiasi hiperplasia epidermal dengan memproduksi spesies oksigen reaktif (ROS) untuk menghasilkan stres oksidatif yang menyebabkan banyak penyakit pada manusia. Memang, ROS yang disebabkan oleh stres oksidatif memiliki efek merugikan pada kulit, seperti peroksidasi lipid membran, respons pro-inflamasi, dan pergantian struktur protein dan DNA, yang pada akhirnya menyebabkan kerusakan kulit, nekrosis, atau apoptosis dan menyebabkan bintik melanin, keriput, dan proses patologis kulit terkait usia. (Park *et al.*, 2021).

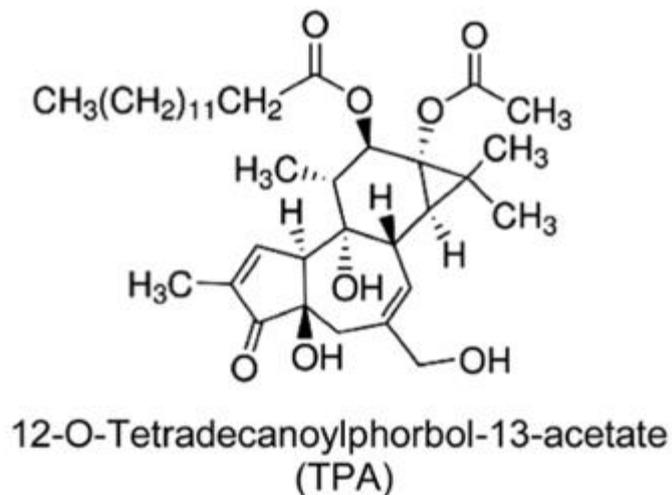
Umumnya, TPA digunakan sebagai agen pemicu tumor untuk karsinogenesis kulit pada hewan pengerat dan dikaitkan dengan peningkatan proliferasi sel dalam sel ganas dari beberapa jenis tumor, seperti melanoma dan kanker payudara dan mulut. Namun, fungsi

TPA masih kontroversial karena penurunan kapasitas proliferasi sel juga telah diamati pada sel limfoma yang diobati dengan TPA dibandingkan dengan kontrol. Oleh karena itu, efek yang berbeda dapat terjadi setelah terpapar TPA di berbagai jenis sel. Meskipun beberapa penelitian telah menyelidiki efek TPA pada proliferasi sel pada kanker hati, peran pasti TPA dalam mempertahankan fenotipe transformatif dalam sel kanker hati sebagian besar masih belum diketahui. (Zhu *et al.*, 2017)

Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa TPA meningkatkan migrasi sel melalui aktivasi protein kinase C (PKC) di beberapa jenis sel tumor. Sebagai aktivator PKC, TPA juga menghambat apoptosis yang diinduksi oleh Fas / FasL pada sel leukemia promyelocytic manusia. Meskipun TPA telah dilaporkan bersifat pro-tumorigenik, efek pastinya masih kontroversial. Sebuah studi dari Gong *et al.* telah menyarankan bahwa TPA memberikan peran yang berlawanan pada proliferasi sel, mungkin melalui pengaturan jalur Hippo / YAP dengan cara yang bergantung pada tipe sel. Ini mungkin karena TPA dapat mengaktifkan isoform PKC yang berbeda di berbagai jenis sel. Misalnya, TPA memengaruhi isoform nPKC untuk mengaktifkan LATS, penghambat alami YAP, di sel Swiss3T3, MEF dan A549, sedangkan TPA memengaruhi isoform cPKC untuk menekan LATS dalam sel HEK293A. Dengan demikian, satu obat dapat menyebabkan efek berlawanan melalui jalur

pensinyalan yang sama. (Zhu *et al.*, 2017)

*The phorbol ester 12-O-tetradecanoylphorbol-13 acetate* (TPA) adalah komponen aktif minyak puring dan promotor tumor yang kuat. TPA meniru diasilgliserol utusan kedua untuk mengaktifkan protein kinase C (PKC) dan mengubah jalur pensinyalan sel. TPA telah digunakan secara ekstensif untuk menyelidiki peran PKC dalam respons biologis, tetapi baru-baru ini telah terbukti mengaktifkan Rap1 dalam neutrofil dan fibroblas. Aktivasi Rap1 oleh TPA telah terbukti PKC independen dalam neutrofil, dan mungkin tergantung pada kemampuan ester forbol untuk secara langsung mengaktifkan faktor penukar nukleotida Rap1 guanin spesifik Rap1 diasilgliserol. (Kolb and Davis, 2004)



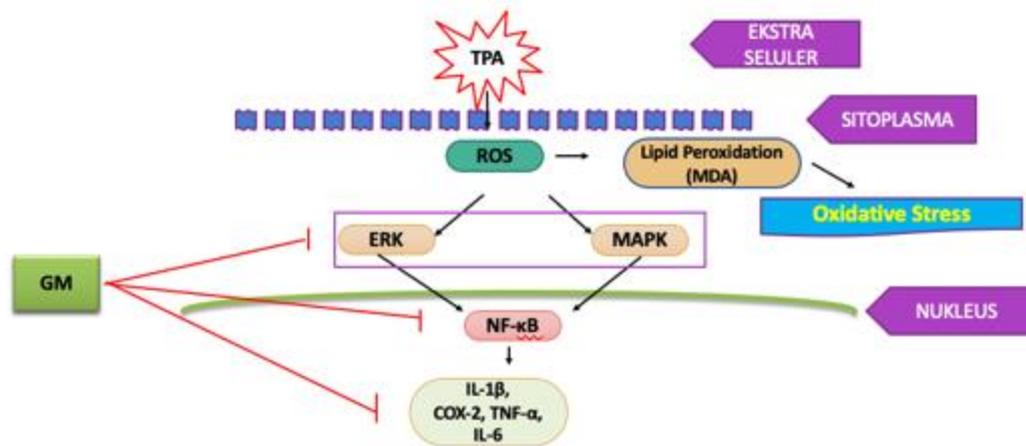
**Gambar 7.** Struktur *Tetradecanoyl Phorbol-13-Acetate* (Huang *et al.*, 2015)

Mengingat peran hipotesis Tsc2 dalam regulasi Rap1, Kolb *et.al* (2004) membandingkan respons seluler terhadap TPA antara sel

pengekspres Tsc2-null dan Tsc2. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa TPA dengan cepat mengaktifkan PKCa dan sinyal ekstraseluler yang diatur kinase (ERK) pada kedua jenis sel, tetapi menyebabkan aktivasi Rap1 yang lemah hanya pada sel ERC-18. TPA menginduksi akumulasi fokus unik PKCa dalam sel ERC-18, dan aktivasi ERK diperpanjang dalam sel ERC-18 jika dibandingkan dengan NRK-52E. Lebih lanjut, sel Tsc2-null memiliki respon morfologi yang berkepanjangan terhadap promotor tumor yang bergantung pada PKC dan dimodulasi Tsc2. (Kolb and Davis, 2004)

Pada studi yang dilakukan Xue-Tao Xu dkk mengemukakan bahwa TPA menginduksi IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , dan COX-2. Studi mekanis selanjutnya mengindikasikan bahwa TPA menstimulasi aktivasi NF- $\kappa$ B pada kulit mencit yang dapat menyebabkan stress oksidatif. {Xu, 2016 #95}. Kemudian berdasarkan Kim et al, melaporkan terjadinya edema telinga yang diinduksi pada telinga kanan melalui aplikasi topikal 1 g/telinga TPA yang dilarutkan dalam 10 L aseton. (Kim *et al.*, 2020). Selanjutnya pada studi yang dilakukan Shakilur Rahman, dkk (2008), melaporkan bahwa double aplikasi pemberian TPA (1,0  $\mu$ g) yang dilarutkan dalam 20  $\mu$ l aseton pada mencit dalam 2 kali pemberian selang 24jam lalu di terminasi, dapat meningkatkan kadar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang menyebabkan terjadinya peningkatan ROS, sehingga semakin banyak bukti yang menunjukkan peran yang menyebabkan terjadinya stres oksidatif.

## 2.8 KERANGKA TEORI



## 2.9 KERANGKA KONSEP

