

KARYA AKHIR

**EFEK TOPIKAL GEL EKSTRAK CURCUMIN TERHADAP
INFLAMASI KULIT MENCIT ALBINO YANG DIINDUKSI 2,4
DINITROCHLOROBEENZE
(ANALISIS HISTOPATOLOGI)**

***ANTIINFLAMATORY EFFECT OF TOPICAL CURCUMIN GEL IN
ALBINO MICE INDUCED BY 2-4- DINITROCHLOROBEENZE
(HISTOPATHOLOGICAL ANALYSIS)***

RINA MUNIRAH BULQINI

NIM: C115172003



KONSENTRASI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS

PROGRAM PASKA SARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2021

**EFEK TOPIKAL GEL EKSTRAK CURCUMIN TERHADAP
INFLAMASI KULIT MENCIT ALBINO YANG DIINDUKSI 2,4
DINITROCHLOROBEENZE
(ANALISIS HISTOPATOLOGI)**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Spesialis

Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis

Disusun dan diajukan oleh

RINA MUNIRAH BULQINI

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)
DEPARTEMEN ILMU KESEHATAN KULIT & KELAMIN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

LEMBAR PENGESAHAN THESIS

**EFEK TOPIKAL GEL EKSTRAK CURCUMIN TERHADAP INFLAMASI
KULIT MENCIT ALBINO YANG DIINDUKSI 2,4
DINITROCHLOROBENZE
(ANALISIS HISTOPATOLOGI)**

Disusun dan diajukan oleh:

RINA MUNIRAH BULQINI

Nomor Pokok: C115172003

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Spesialis Program Studi Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 11 Maret 2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama

Dr. dr. Faridha Ilyas, Sp.KK(K),
FINSDV, FAADV
NIP: 19641231 199103 2 004

Pembimbing Anggota

Dr. dr. Anni Adriani, Sp.KK(K),
FINSDV, FAADV
NIP: 196505 102003 12 2001

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, SpM(K),
PhD
NIP: 19661231 199503 1 009

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Rina Munirah Bulqini
No. Stambuk : C115172003
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, 25 Juni 2021

Yang menyatakan,



Rina Munirah Bulqini

PRAKATA

Puji syukur saya panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena berkat limpahan rahmat dan ridho-Nya saya dapat menyelesaikan penyusunan tesis ini. Solawat serta salam tercurah kepada Nabi Muhammad SAW. Kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Ketua Program Pendidikan Dokter Spesialis I Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, saya mengucapkan terima kasih atas izin dan kesempatan yang telah diberikan untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan dokter spesialis di Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Saya mengucapkan terima kasih yang tiada terhingga kepada Dr. dr. Siswanto Wahab, SpKK(K), FINS DV, FAADV selaku Kepala Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, atas semua kasih sayang, arahan, bimbingan, dukungan dan doa yang tiada henti, juga kepada yang terhormat Ketua Program Studi Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Dr. dr. Khairuddin Djawad, SpKK(K), FINS DV, FAADV atas segala perhatian, arahan serta bimbingan yang telah diberikan selama saya menempuh pendidikan hingga tersusunnya tesis ini.

Kepada yang saya hormati Dr. dr. Faridha Ilyas, Sp.KK (K), FINS DV, FAADV sebagai pembimbing pertama saya, saya ucapkan terima kasih banyak atas semua arahan, bantuan, dukungan, bimbingan, doa dan kasih sayang yang telah diberikan, yang saya hormati pula Dr. dr. Anni Adriani, Sp.KK (K), FINS DV, FAADV sebagai pembimbing kedua saya, saya ucapkan banyak terima kasih atas semua didikan, arahan, bimbingan dan doa untuk saya, yang terhormat Dr. dr. Arifin Seweng, MPH sebagai pembimbing statistik/metode penelitian saya, saya ucapkan terima kasih atas segala bimbingan serta masukannya sehingga tesis ini dapat selesai saya susun. Kepada yang terhormat penguji tesis saya, dr.

Muhammad Husni Cangara, Ph.D, Sp.PA, DFM atas segala masukan, kebaikan, didikan, bimbingan, dan umpan balik yang disampaikan selama penyusunan tesis ini. Juga kepada penguji saya Ibu Yusnita Rifai, M.Pharm, Ph.D, Apt atas segala kebaikan selama penyusunan tesis ini. Semoga segala kebaikan pembimbing dan penguji tesis ini mendapatkan balasan dengan kebaikan dan keberkahan yang berlipat.

Kepada yang terhormat seluruh Staf pengajar dan guru-guru saya di Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, terima kasih atas segala bimbingan dan kesabaran dalam mendidik sehingga saya dapat menyelesaikan seluruh tahapan pendidikan ini dengan lancar, semoga ilmu yang telah diberikan dapat menjadi bekal, memberikan kemanfaatan bagi sesama dan menambah keberkahan.

Terima kasih yang terdalam untuk separuh jiwa saya; suami saya, Jajang Hoerudin, atas semua keridhoan, keikhlasan, pengorbanan, kesabaran, kesetiaan, dukungan yang tiada henti, serta atas doa yang terucap disetiap hela nafas, semoga Allah membalasnya dengan berlipat kebaikan dan keberkahan yang berlimpah serta kepada orang tuaku tercinta, ayahanda H. Acep Bulqini, ibunda (almh) Hj. Nani Ruhjani dan mamah Hj. Sobanah, semoga Allah senantiasa berikan kesehatan, umur yang panjang, penuh barokah dan kebahagiaan. Kepada kakak-kakak tercinta Aa Erwin Qizwini, Aa Diki Sam'ani, Tete Iyos Rosdiani, Ceuceu Pipih Latipah dan seluruh keluarga besar atas segala cinta, kasih sayang, dan doa, sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan ini. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat-Nya.

Kepada Prof Subowo, MSc. PhD, dr. Dian Mardiyanti, Sp.KK, dr. H. Wahyu Harihardjaja, Sp.PD, dr. Priatna, MARS, Sp.Rad, dr. Iis Inayati Rachmat, M.Kes, dr. Hindun Saadah, M.Biomed., serta seluruh civitas akademik FK Universitas Jenderal Achmad Yani (UNJANI) Cimahi, saya ucapkan terima kasih banyak atas semua semangat dan dukungan yang telah diberikan. Teruntuk teman-teman Program Pendidikan Spesialisasi Ilmu Kesehatan Kulit dan

Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin terima kasih atas segala bantuan, dorongan dan pengertian teman-teman selama bersama-sama menjalani pendidikan ini. Terutama kepada sahabat-sahabat saya di "Avenger5", dr. Ivan Kurniadi, dr. Gede Putra Kartika Wijaya, dr. Dina Pebriany, dr. Amelia Soebianto, Sp.DV, anggota "6Champs" dr. Ayu Wulansari Bambang dan dr. Rosani. Terima kasih saya sampaikan untuk dr. Paketu, dr. Mario, dr. Andrea, dr. Ai, dr Cheryl, dr. Ardel, dr. Ayuda serta teman-teman sekalian atas setiap dukungan, semangat, persahabatan dan setiap doa yang terucap untuk saya, semoga Allah senantiasa menjaga di manapun berada dan memudahkan setiap tahapan yang akan dan harus dilalui.

Terima kasih kepada semua pihak yang namanya tidak tercantum tapi telah membantu dalam proses pendidikan penulis dan telah menjadi inspirasi dan pelajaran berharga bagi penulis. Doa terbaik saya panjatkan semoga Allah SWT memberi balasan berlipat untuk setiap dukungan yang telah diberikan.

Alhamdulillah dapat berlayar tanpa menabrak karang dan akhirnya kapal akan segera putar haluan menuju pelabuhan awal untuk turun jangkar. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan berkah, kasih sayang serta melindungi dan menjaga dalam setiap langkah kita.

Makassar, 25 Juni 2021

Rina Munirah Bulqini

EFEK TOPIKAL GEL EKSTRAK CURCUMIN TERHADAP INFLAMASI KULIT MENCIT ALBINO YANG DIINDUKSI 2,4 DINITROCHLOROBENZE (ANALISIS HISTOPATOLOGI)

Rina Munirah Bulqini, Faridha Ilyas, Anni Adriani, Arifin Seweng, Muhammad Husni Cangara, Yusnita Rifai

Pendahuluan: Inflamasi merupakan respon pertahanan tubuh terhadap trauma atau patogen yang pertama ditandai dengan migrasi neutrofil. *1-chloro-2,4-dinitrochlorobenzen (DNCB)* merupakan induktor inflamasi dengan tanda utama berupa kerusakan epidermis. *Curcumin* memengaruhi *signaling pathway* inflamasi dan menunjukkan potensi sebagai agen kemoterapeutik. Namun, efektivitas administrasi oral terkendala sifat hidrofobik sehingga absorpsi dan bioavailibilitasnya, sangat rendah. Sediaan topikal dapat meningkatkan penetrasi ke kulit sehingga berpotensi menjadi sediaan yang ideal untuk memaksimalkan potensi sifat anti inflamasi *Curcumin*, terutama melalui penghambatan enzim Fosforilase Kinase.

Tujuan: mengetahui pengaruh aplikasi topikal gel ekstrak *Curcumin* dengan berbagai konsentrasi terhadap ketebalan epidermis dan jumlah neutrofil mencit albino yang mendapat paparan DNCB.

Metode: Mencit dibagi menjadi 6 kelompok: kontrol (tidak diberikan perlakuan apapun), induksi DNCB saja, DNCB dan *base gel*, dan 3 kelompok perlakuan yaitu DNCB dan gel ekstrak *Curcumin* 2%, 4%, dan 8% ke punggung mencit. Setelah 72 jam dilakukan pemeriksaan histopatologi untuk menilai ketebalan epidermis dan jumlah netrofil.

Hasil: Dari total 30 mencit, tidak ada perbedaan tebal epidermis yang signifikan antar kelompok control dan perlakuan ($p>0.05$). Terdapat perbedaan signifikan rerata jumlah sel neutrofil kelompok yang dioleskan curcumin 2% (12,07), 4% (10,00), dan 8% (10,07) dengan kelompok yang diinduksi DNCB saja (130,000) dengan nilai $p<0,001$. Tidak terdapat perbedaan jumlah neutrofil yang signifikan antar kelompok perlakuan ($p>0.05$)

Kesimpulan: Gel ekstrak *Curcumin* memiliki efek antiinflamasi melalui supresi neutrofil

Kata kunci: curcumin, gel, inflamasi, topikal, 2,4 *dinitrochlorobenzen*, neutrofil

ANTIINFLAMMATORY EFFECT OF TOPICAL CURCUMIN GEL IN ALBINO MICE INDUCED BY 2-4-DINITROCHLOROBENZE (HISTOPATHOLOGICAL ANALYSIS)

Rina Munirah Bulqini, Faridha Ilyas, Anni Adriani, Arifin Seweng, Muhammad Husni Cangara, Yusnita Rifai

Introduction: Inflammation is a physiologic response to trauma or pathogens which is first characterized by neutrophil migration. 1-chloro-2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB) is an inflammatory inductor with epidermal damage as the main manifestation. Curcumin influences inflammatory signaling pathways and is a potential chemotherapeutic agent. However, the effectiveness of oral administration is constrained by its hydrophobic nature, leading to limited absorption and bioavailability. Topical preparation can increase penetration into the skin which makes it a suitable vehicle to maximize the anti-inflammatory property of curcumin, especially through inhibition of phosphorylase kinase enzyme.

Objective: To determine the effect of topical application of Curcumin extract gel with various concentrations on the epidermal thickness and neutrophil count DNCB-induced albino mice.

Methods: Mice were divided into six groups: control (no treatment was given), DNCB induction, DNCB and base gel, and three treatment groups in which in addition to DNCB induction, Curcumin extract gel 2%, 4%, and 8% were applied to the back of mice. After 72 hours, histopathological examination was performed to assess epidermal thickness and neutrophil count.

Results: From a total of 30 mice, no significant difference in epidermal thickness between the control and treatment groups was found ($p>0.05$). There was a significant difference in the mean neutrophil count between the 2% (12.07), 4% (10.00), and 8% (10.07) curcumin-treated group with DNCB induced group (130,000) with $p<0.001$. There was no significant difference in the number of neutrophils between treatment groups ($p>0.05$)

Conclusion: Curcumin extract gel showed anti-inflammatory effect through suppression of neutrophil

Keywords: curcumin, gel, inflammation, topical, 2,4 dinitrochlorobenzene, neutrophil

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI.....	i
DAFTAR GAMBAR	iii
DAFTAR TABEL	iv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.3.1 Tujuan Umum.....	7
1.3.2 Tujuan Khusus.....	7
1.4 Hipotesis Penelitian.....	7
1.5 Manfaat Penelitian	8
1.5.1 Manfaat Akademik	8
1.5.2 Manfaat Praktis.....	8
1.6 Road Map Penelitian.....	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Inflamasi Kulit	10
2.2 Gambaran Histopatologi Inflamasi.....	14
2.3 Curcumin.....	14
2.4 Target Molekular Curcumin	19
2.5 Mekanisme Anti-Inflamasi.....	20
2.6 2,4 Dinitrochlorobenzene (DNCB)	24
2.7 Kerangka Teori.....	26
2.8 Kerangka Konsep	28
BAB III METODE PENELITIAN.....	29
3.1 Rancangan Penelitian.....	29
3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian	29
3.3 Populasi Penelitian	29
3.4 Sampel Penelitian	30
3.4.1 Besar Sampel.....	30
3.4.2 Kriteria sampel.....	30

3.5	Alat dan Bahan.....	31
3.6	Prosedur Penelitian	32
3.6.1	Pembuatan Gel Ekstrak Curcumin	32
3.6.2	Formulasi Gel Ekstrak Curcumin	32
3.6.3	Pengenceran DNCB.....	32
3.6.4	Pembuatan Model Binatang.....	33
3.6.5	Prosedur Pengambilan Sediaan Biopsi Kulit.....	35
3.6.6	Pewarnaan HE.....	35
3.6.7	Pemeriksaan Histopatologi.....	36
3.7	Alur Penelitian.....	38
3.8	Identifikasi Variabel	39
3.9	Definis Operasional dan Kriteria Objektif	39
3.10	Pengolahan dan Analisis Data	41
3.11	Izin Penelitian dan Kelayakan Etik (<i>Ethical Approval</i>)	42
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		43
4.1	Hasil Penelitian	43
4.2	Pembahasan.....	52
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		62
5.1	Kesimpulan	62
5.2	Saran.....	62
DAFTAR PUSTAKA.....		64
LAMPIRAN.....		68
	Lampiran 1.....	68
	Lampiran 2.....	69
	Lampiran 3.....	70
	Lampiran 4.....	72
	Lampiran 5.....	73
	Lampiran 6.....	80
	Lampiran 7.....	81
	Lampiran 8.....	82
	Lampiran 9.....	84

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1: Curcumin (1,7-bis(4'-hidroksi-3'-metoksifenil) hepta-1,6-diena-3,5-ion).....	17
Gambar 2. Rimpang <i>Curcuma longa</i>	18
Gambar 3. Target Molekular Curcumin.....	20
Gambar 4. Modifikasi Kerangka Teori	27
Gambar 5: Kerangka Konsep.....	28
Gambar 6. <i>Mean</i> Rerata Tebal Epidermis pada Berbagai Kelompok...	46
Gambar 7. Mean (Rerata) Jumlah Netrofil pada Berbagai Kelompok..	49

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Analisis Deskriptif Tebal Epidermis pada Berbagai Kelompok.....	44
Tabel 4.2. Perbandingan Rerata Tebal Epidermis pada Berbagai Kelompok.....	45
Tabel 4.3. Analisis Deskriptif Jumlah Netrofil pada Berbagai Kelompok.....	47
Tabel 4.4. Perbandingan Rerata Jumlah Netrofil pada Berbagai Kelompok.....	48
Tabel 4.5. Tabel <i>Multiple Comparisons</i> Rerata Jumlah Netrofil.....	50

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kulit merupakan suatu integumen vertebrata. Salahsatu fungsi utama kulit adalah membentuk *barrier* fisik dari lingkungan luar. Kulit melindungi tubuh dari kerusakan fisik yang disebabkan desikasi, stres fisik, *overheating* paparan sinar ultraviolet, (Kubo, A. dan Amagai M, 2018) paparan zat kimia dan agen biologis, termasuk kosmetik, sabun, patogen, polutan lingkungan dan mikroorganisme. Peningkatan paparan dari faktor-faktor ini dapat menyebabkan berbagai reaksi kulit, seperti peradangan kulit, iritasi, alergi dan bahkan kanker (Wufuer et al., 2016).

Inflamasi merupakan respon imun yang bersifat protektif terhadap berbagai patogen, sel mati, zat iritan dan diregulasi secara ketat oleh inang. Inflamasi yang tidak adekuat dapat menyebabkan terjadinya infeksi patogen persisten. Sedangkan inflamasi yang berlebihan dapat menyebabkan penyakit inflamasi kronik atau penyakit inflamasi sistemik (Guo et all, 2016, Wufuer et al, 2016, Pasparakis et al, 2014). Sebagai respon fisiologis, peradangan berperan melindungi tubuh dari cedera jaringan. Peradangan akut terjadi sangat cepat, dan proses dapat berlangsung selama beberapa menit hingga beberapa hari. Peradangan kronis terjadi ketika proses peradangan akut terjadi berulang kali atau terus

menerus, dengan proses yang berlangsung lama selama beberapa minggu hingga bulan dan bahkan bertahun-tahun. (Paramita et al., 2017)

Meskipun inflamasi merupakan mekanisme pertahanan tubuh, peristiwa kompleks dan mediator yang terlibat dalam reaksi ini dapat menginduksi, atau memperburuk berbagai penyakit. Karena itu, penggunaan agen antiinflamasi sangat membantu dalam terapi inflamasi yang patologis (Abbas et al., 2015). Kortikosteroid topikal merupakan pilihan pertama terapi berbagai penyakit inflamasi kulit. Namun, penggunaan kortikosteroid dalam jangka lama dapat menimbulkan efek samping lokal, efek samping sistemik dan dapat menginduksi atrofi kulit. Sementara itu, golongan *calcineurin inhibitor* tidak menimbulkan atrofi kulit, tetapi penggunaan dalam jangka lama dapat menimbulkan rasa terbakar, eritem, pruritus dan dikontraindikasikan untuk pasien *immunocompromise* dan untuk usia di bawah 2 (dua) tahun. Dengan demikian, adanya obat antiinflamasi topikal dengan efikasi yang baik serta efek samping minimal sangat diperlukan (Srirod S dan Tewtrakul S, 2019)

Beberapa studi mengemukakan bahwa terdapat sejumlah besar pasien menggunakan pengobatan komplementer untuk terapi inflamasi seperti pada dermatitis kontak, termasuk *herbal remedies*. Diperkirakan sekitar 80% individu di negara berkembang menggunakan produk natural untuk kebutuhan kesehatannya. Sekitar 877 obat molekul kecil diperkenalkan di seluruh dunia antara tahun 1981-2002 dan 61%nya berupa *natural product*. *Natural product* bukan hanya efektif, tetapi relatif non-toksik

dan memiliki dosis efek terapeutik di bawah level toksik (Fadus M, et al, 2017).

Di antara berbagai *natural remedies*, *Turmeric* merupakan tanaman yang diketahui banyak memberikan efek berharga dalam pengobatan. Agen ini memiliki efek anti inflamasi, antioksidan, antikanker, antipenuaan dini, antiaterosklerotik, antidepresan, antidiabetik, penyembuhan luka. Di antara sejumlah besar zat yang diisolasi dari *Turmeric*, *Curcumin* merupakan zat yang paling banyak diteliti. *Curcumin* berasal dari *rhizoma* *Turmeric* dan secara struktur memiliki setidaknya dua bentuk yaitu keto dan enol dan kedua zat tersebut memiliki kemampuan sebagai antioksidan, anti inflamasi, antikanker, antiviral, antibakteri, antidiabetik (Kunnumakkara, et al, 2017). Selain itu, *Curcumin* mengandung lipofilik polifenol (Kocaadam B., Sanlier N., 2017) yang diketahui memiliki kemampuan menangkal radikal bebas (Shotriya S. et al, 2018) dan polifenol merupakan agen terapeutik potensial (Agrawal R. et al, 2014).

Curcumin (diferuloylmethane) merupakan molekul yang menunjukkan prospek menjanjikan sejak bertahun-tahun (Fadus M. et al, 2017, Edwards R.L. et al, 2017). *Curcumin* merupakan komponen aktif utama *turmeric* (90%) selain demethoxycurcumin dan bisdemethoxycurcumin (Fadus M. et al, 2017, Boroumand N. et al, 2018). *Turmeric* telah digunakan selama bertahun-tahun untuk berbagai pengobatan dan dikenal dengan efek anti inflamasinya (Heng MCY, 2017)

Dalam beberapa tahun, beberapa studi penelitian pada kultur sel dan model hewan secara uji klinik mengungkapkan luasnya potensi farmakologis *Curcumin*. *Curcumin* memiliki peran farmakologis dalam berbagai penyakit, seperti autoimun, cardiovascular, neoplasia, penyakit paru, neurodegeneratif dan penyakit metabolik. Beberapa penelitian membuktikan bahwa curcumin memiliki efek antibakteri, antivirus dan antijamur (Boroumand N. et al, 2018). Dalam bentuk ekstrak dari *turmeric*, *curcumin* memiliki sifat sebagai agen anti inflamasi (Edwards R.L. et al, 2017). Potensi efikasi *curcumin* terutama dalam bentuk oral. Namun, efektivitasnya terkendala sifat hidrofobik sehingga absorpsinya menjadi kurang baik dan bioavailibilitasnya rendah serta kadar dalam plasma dan di jaringan sangat rendah. Sementara itu, topikal *curcumin* dapat dengan mudah diformulasi untuk meningkatkan penetrasi ke kulit,serta tidak dipengaruhi absorpsinya oleh gaster dan dapat ditingkatkan terutama ketika terjadi inflamasi atau *barrier* kulit mengalami defek oleh karena jejas atau penyakit (Heng MCY, 2017) .

Terdapat beberapa strategi yang dapat digunakan untuk meningkatkan sifat absorpsi *curcumin* ke jaringan, termasuk *nano-encapsulation* telah terbukti meningkatkan efektivitas curcumin ke jaringan. Beberapa strategi tersebut di antaranya berupa *nanovesicle*, *polymeric micelle*, *liposom konvensional* dan *hyalurosom*, *hydrogel nanocomposit*, *nanoconjugates*, *nanostructure lipid carrier*, nanoemulsi, nanodisperi dan nanopartikel polimerik (Heng MCY, 2017). Formula gel lebih dipilih oleh

karena memiliki karakter *control release*, memiliki kemampuan mencapai target epidermis yang *viable*, mudah dimanipulasi *swelling levelnya* dan memiliki kompatibilitas jaringan yang baik (Shotriya S. et al, 2018). Produk *Curcumin* dalam *topical base gel* diketahui memberikan perbaikan cepat pada luka bakar dengan sedikit atau tanpa *residual scar* (Heng M.C.Y, 2013) dan menghilangkan pembengkakan akibat *crush injury* (Heng M.C.Y, 2017). *Curcumin gel 0,1% solid lipid nanoparticle* diketahui tidak bersifat iritatif, dan mampu menekan pembengkakan telinga mencit dan mengurangi kandungan air dalam model mencit yang diinduksi dermatitis (Shotriya S. et al 2018).

Salahsatu penyakit inflamasi kulit yang umum terjadi adalah dermatitis kontak yang dapat dicetuskan oleh kontak dengan substansi asing baik bahan alami maupun bahan kimia sintetik. Bahan molekul asing tersebut dapat mencetuskan alergi atau iritasi kulit sehingga memberikan gejala inflamasi berupa kemerahan, rasa gatal, rasa terbakar hingga pembentukan bulla. Komponen organik seperti *1-chloro-2,4-dinitrochlorobenzen (DNCB) cycloheximide benzene* sering digunakan sebagai *sensitizer* timbulnya gejala yang menyerupai dermatitis kontak pada mencit (Chen C.C et al, 2017; Heo J.H et al, 2018) serta sering digunakan untuk meneliti patogenesis dermatitis kontak (Zhang E.Y.et al 2009). Selain itu, salah satu penelitian membuktikan bahwa pengaplikasian DNCB satu kali pada punggung tikus dapat menyebabkan kontak hipersensitivitas ringan pada kulit hingga delapan hari kemudian (Zhang et

al., 2009) dan dapat menjadi model dermatitis kontak pada pengaplikasian sekali seminggu dilanjutkan *alternating dose* selama 3 minggu (Zhong *et al.*, 2017). DNCB dianggap sebagai induktor yang paling menjanjikan untuk penelitian dengan model kontak hipersensitivitas. Salahsatu penanda histologis adanya dermatitis kontak adalah penebalan lapisan epidermis dan lapisan luar dermis oleh karena infiltrasi sel imun. (Heo J.H *et al.*, 2018).

Berdasarkan penelusuran jurnal baik secara *online* maupun manual, terdapat banyak uji-uji klinik mengenai *Curcumin* oral, namun penelitian-penelitian topikal *Curcumin* masih terbatas. Sehingga berdasarkan paparan diatas, maka perlu dilakukan penelitian untuk menilai efek topikal gel ekstrak *Curcumin* terhadap inflamasi kulit mencit yang diinduksi DNCB agar dapat menjadi usulan inovasi obat anti inflamasi alami.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah aplikasi topikal gel ekstrak *Curcumin* berpengaruh terhadap ketebalan epidermis kulit mencit akibat paparan DNCB?
2. Apakah aplikasi topikal gel ekstrak *Curcumin* berpengaruh terhadap Jumlah Neutrofil mencit akibat paparan DNCB?
3. Apakah peningkatan konsentrasi gel ekstrak curcumin akan meningkatkan efek anti inflamasi?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh aplikasi topikal gel ekstrak *Curcumin* dengan berbagai konsentrasi terhadap ketebalan epidermis dan jumlah neutrofil mencit albino yang mendapat paparan DNCB

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membandingkan ketebalan epidermis antara kelompok mencit yang diberikan aplikasi topikal gel *Curcumin* dengan kelompok mencit yang tidak diberikan topikal gel *Curcumin*
2. Membandingkan jumlah netrofil antara kelompok mencit yang diberikan aplikasi topikal gel *Curcumin* dengan kelompok mencit yang tidak diberikan topikal gel *Curcumin*
3. Mengetahui konsentrasi terbaik dari gel ekstrak *Curcumin* yang memiliki efek sebagai antiinflamasi akut

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Ketebalan epidermis pada kelompok mencit yang mendapatkan topikal gel *Curcumin* lebih tipis dibandingkan kelompok mencit yang tidak diberikan topikal gel *Curcumin*

2. Jumlah neutrofil antara kelompok mencit yang diberikan aplikasi topikal gel *Curcumin* lebih sedikit dibandingkan kelompok mencit yang tidak diberikan topikal gel *Curcumin*
3. Konsentrasi gel ekstrak *Curcumin* yang lebih tinggi memberikan efek anti inflamasi yang lebih baik dibandingkan konsentrasi gel ekstrak *Curcumin* yang lebih rendah

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat Akademik

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah pada ilmu kedokteran mengenai agen antiinflamasi topikal dari ekstrak *Curcumin* serta dapat emberikan data awal bagi penelitian-penelitian selanjutnya

1.5.2 Manfaat Praktis

Diharapkan menambah pengetahuan masyarakat mengenai agen anti inflamasi bentuk gel dari ekstrak *Curcumin* yang diaplikasikan secara topical

1.6 Road Map Penelitian



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Inflamasi Kulit

Kulit merupakan *barrier* tubuh dari lingkungan. Kulit membentuk penghalang aktif sebagai lini pertama pertahanan imunologi terhadap infeksi. Epitel, stromal dan regulasi sel imun respon imun pada kulit memastikan pertahanan tuan rumah yang efektif dan untuk mempertahankan atau memulihkan homeostasis jaringan. Selain itu, berbagai kelompok mikroba berkolonisasi pada permukaan kulit dan selalu berinteraksi dengan epitel *host* dan sel imun, sehingga memengaruhi kekebalan lokal dan sistemik. Pendekatan klasik untuk mempelajari respon imun berfokus pada seluler individu dan komponen molekuler imunitas bawaan dan adaptif. (Pasparakis, et al. 2014)

Respon inflamasi adalah aktivasi terkoordinasi dari *signaling pathway* yang mengatur kadar mediator inflamasi pada sel jaringan dan sel inflamasi yang berasal dari darah. Fungsi dari inflamasi adalah untuk mengeliminasi penyebab trauma dengan pembersihan sel nekrotik dan jaringan yang rusak, lalu memulai perbaikan jaringan. Inflamasi akut mengontrol semua reaksi radang. Ketika partikel asing terdeteksi oleh tubuh melalui membran fosfolipid, sel akan memicu jalur fosfolipase A yang mengarah ke biosintesis prostanoid dengan produksi asam arakidonat. Prostanoid seperti prostaglandin dan *prostacyclin* dihasilkan dari prekursor

prostaglandin G₂ / H₂ akan mengaktifkan makrofag, yang melepaskan mediator inflamasi lainnya seperti *tumor necrosis factor α* (TNF α). Kemudian akan dilanjutkan ke kaskade pensinyalan NF- κ B. Aktivasi awal dari sistem komplemen dijalankan oleh pembelahan protein komplemen C3 dan C5 yang akibatnya akan menghilangkan ancaman dari tubuh, umumnya dengan membunuh sel-sel yang terkena. (Marzaimi dan Aizat 2019)

Jalur lain adalah melalui pengaktifan NF- κ B, yang merupakan faktor penting dalam inflamasi, respon imun, pertahanan, dan proses apoptosis. Aktifitas NF- κ B diinduksi oleh berbagai stimulus, termasuk substansi patogen, sitokin inflamasi interseluler dan berbagai enzim. Di bawah kondisi fisiologis, protein I κ B mempresentasikan sitoplasma penghambat NF- κ B. *Pattern-recognition receptors* (PRRs) menggunakan mekanisme sinyal transduksi yang sama untuk mengaktifasi I κ B kinase (IKK), yang terdiri dari dua subunit kinase, IKK α dan IKK β , dan subunit regulator seperti IKK γ . IKK mengatur aktivasi jalur NF- κ B menjadi I κ B fosforilasi. I κ B fosforilasi menghasilkan degradasi oleh *proteasome* dan melepaskan NF- κ B untuk translokasi nuclear dan aktivasi transkripsi gen. Jalur ini mengatur produksi sitokin proinflamasi dan rekrutmen sel inflamasi yang berkontribusi terhadap respon inflamasi. (Chen, 2018)

Respon inflamasi akut dibagi dalam 2 fase umum, yaitu inisiasi dan resolusi. Inisiasi ditandai dengan edema jaringan akibat peningkatan aliran darah dan permeabilitas mikrovaskuler, proses yang dimediasi oleh

mediator lipid (seperti leukotriens sisteinil dan prostaglandin) dan produk vasoaktif lainnya seperti histamin dan bradikinin. Kemudian, polimorfonuklear netrofil (PMN) bermigrasi ke daerah paparan untuk melawan invasi mikroba. Ditarik ke lokasi cedera oleh sinyal kimia yang dikeluarkan termasuk mediator lipid proinflamasi (misalnya, leukotriene B4 [LTB4]) dan kemokin, PMN melintasi pembuluh darah melalui interaksi dengan reseptor adhesi endotel dan kemudian menelan dan menurunkan patogen dalam *phagolysosomes*. Fase resolusi terjadi pada titik awal sejak PMN dihentikan dan disertai dengan apoptosis. Monosit kemudian menyusup ke jaringan tempat makrofag berdiferensiasi sebagai respon terhadap *pathogen-associated molecular patterns* dan *damage associated molecular pattern* di jaringan yang terluka. Makrofag sangat responsif terhadap sinyal *find-me* dan *eat-me* (misalnya, nukleotida dan fosfatidilserin eksternal) dilepaskan atau disajikan oleh sel-sel apoptosis seperti PMN. Penyerapan sel apoptosis oleh makrofag (yaitu, eferositosis) adalah proses antiinflamasi terkait dengan penurunan produksi mediator inflamasi, sehingga menggabungkan inisiasi peradangan dengan resolusi utamanya. Hal ini diperlukan untuk pembersihan mikroba dan sel apoptosis sehingga mencegah kerusakan jaringan dan mengatur tahap perbaikan dan regenerasi jaringan, dan memungkinkan terjadinya homeostasis (Sansbury, 2016).

Patogen atau *tissue damage* akan memicu sejumlah sel untuk melepaskan mediator seperti histamin, serotonin dan *nitric oxide*

selanjutnya merangsang vasodilatasi, kongesti dan peningkatan permeabilitas kapiler. Kongesti berakibat naiknya tekanan hidrostatik yang menimbulkan keluarnya cairan atau transudate, permeabilitas kapiler menyebabkan keluarnya cairan dan protein plasma atau eksudat serta migrasi neutrophil dan monosit ke area pemicu inflamasi melalui peranan kemokin dan kemotaksis. Edema dan aktivasi komplemen juga berperan dalam membantu netrofil menemukan area pemicu inflamasi sehingga netrofil dan monosit akhirnya dapat mengeliminasi pemicu inflamasi (Wahid S, Miskad U.A, 2016). Pada jaringan trauma, kerusakan sel epitel dan endotel melepaskan faktor yang memicu kaskade inflamasi, kemokin dan *growth factor*, dimana menarik netrofil dan monosit. Awalnya netrofil yang masuk ke area trauma, diikuti dengan monosit, limfosit (*natural killer cells* (NK cells), sel T, dan sel B, serta sel mast. Netrofil merupakan mediator kunci respons inflamasi, dan program *antigen presenting cells* untuk mengaktifkan sel T dan melepaskan faktor lokal untuk menarik monosit dan sel dendritik. (Chen, et al. 2018). Kemokin merupakan kemoatraktan paling penting yang dihasilkan oleh beberapa sel seperti CXCL8 yang dihasilkan makrofag, IL-8 dihasilkan limfosit, dan sejumlah sel non imun lainnya. Adanya *gradient* kimiawi pada cairan intersisial yang dibentuk oleh kemokin, debris bakteri dan jaringan, fragmen protein dari aktivasi komplemen (C3a dan C5a) dan dari neutrofil seperti leukotrien, LTB4 akan menarik dan menuntun netrofil menuju area jejas (Abbas AK, Litchman AH, 2015; Wahid S, Miskad U.A, 2016).

2.2 Gambaran Histopatologi Inflamasi

Peningkatan ketebalan epidermis merupakan tanda iritasi kulit dan inflamasi lokal. Parameter ini merupakan salah satu indikator dari proses yang terjadi selama inflamasi, antara lain peningkatan permeabilitas vaskular, edema, dan pembengkakan didalam dermis, dan proliferasi keratinosit epidermal (Choi, et al. 2009). Pemeriksaan histopatologik dengan pewarnaan Hematoksilin dan Eosin menunjukkan bahwa DNCB dapat menginduksi penebalan epidermis dan lapisan luar dermis sehingga menghasilkan gambaran hiperplasia epidermis, keratinisasi yang berat termasuk hiperkeratosis dan parakeratosis serta terjadinya vasodilatasi signifikan dan meningkatnya infiltrasi sel imun di dermis (Heo J.H., et al, 2018, Chen C.C,et al 2017). Penelitian lain mengungkapkan bahwa pada pemeriksaan histopatologi, mencit yang diinduksi DNCB dapat menyebabkan infiltrasi sel inflamasi, kongesti pembuluh darah dan edema moderat (Zhang E.Y., et al 2009)

2.3 Curcumin

Curcumin merupakan komponen utama *Turmeric* atau *Curcuma longa* dan merupakan unsur utama yang menimbulkan warna kuning pada kunyit (Kunnumakkara, et al 2017, Kocaadam B., Sanlier N., 2017), terdapat pada rhizome *Curcuma longa* Linn (Shotriya S.,et al2018) diisolasi dari berbagai spesies curcuma, *C.longa* Linn, *C. xanthorriza* Roxb, *C. wenyujin*, *C. sichuanensis*, *C.kwansiensis*, *C.aeruginosa* Roxb dan *C. elatha* Roxb.

Curcuma tersebut berasal dari familia Zingiberaceae (Labban L, 2014, Sathi, 2017, Fadus 2017, Djawad K, 2019).

Pemberian secara oral merupakan rute utama *Curcuma longa* dan dapat pula secara topikal untuk *acne*, luka, bulla, ulkus, *eczema*, gigitan serangga, infeksi parasit, perdarahan, dan penyakit kulit lain seperti herpes zoster dan pemfigus. Komponen utama *Turmeric* adalah *Curcuminoid flavonoid* yang terdiri campuran *Curcumin (diferuloylmerhnae)*, *monodesmethoxycurcumin* dan *bisdemethoxycurcumin*. *Curcumin* menempati sekitar 90% dari komponen *curcuminoid* pada *Turmeric*. Komponen lainnya terdiri dari gula, protein resin, minyak yang mudah menguap (*natlanthone, tumerone, zingiberone*) (He, et al 2015). Komponen aktif paling baik adalah *Curcumin* yang merupakan 0,3 – 5,4% diperoleh dari turmeric kasar (Labban, 2017). Senyawa lain yang terkandung dalam rimpang kunyit adalah lemak 1 – 3%, karbohidrat 3%, protein 30%, pati 8%, Vitamin C 45 – 55% dan sisanya berupa garam mineral seperti zat besi, fosfor dan kalsium (Sathi, 2017) *Curcumin* merupakan senyawa polifenol lipofilik yang cenderung tidak larut dalam air tetapi stabil dalam PH asam di lambung. (Jurenka, 2009)

Grup fenolik merupakan struktur pada *Curcumin* yang memiliki kemampuan untuk mengeliminasi radikal bebas. Radikal bebas yang dapat dieliminasi oleh *Curcumin* terdiri dari radikal *hydroxyl, singlet Oxygen, Superoxid, nitrogen dioxide* dan NO (Labban, 2017, Shotriya S., et al 2018). *Curcumin* setidaknya memiliki dua bentuk yaitu keto dan enol. Kedua

bentuk ini memiliki kemampuan sebagai antioksidan, anti inflamasi, antikanker, antiviral, antibakteri, antidiabetik (Kunnumakkara, 2017)

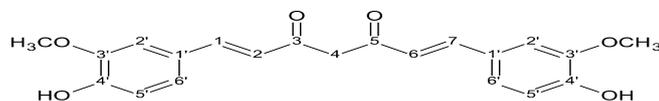
Phenolic merupakan senyawa aktif utama *curcuminoid* yang berperan pada bioaktivitas *Curcuma*. Senyawa lainnya seperti *terpene*, steroid, asam lemak bebas berperan memberi rasa dan bau. Struktur kimia menggambarkan tujuh rantai karbon yang dihubungkan oleh ikatan rangkap (*double bonds*) dan kelompok methoxy berkontribusi pada aktivitas senyawa ini (Sathi, 2017, Djawad K, 2019)

Kunyit kuning atau *Curcuma Longa L (turmeric)* merupakan tumbuhan pada daerah tropis dan subtropis. Daerah dengan produksi terbesar adalah india, yang digunakan sebagai pengobatan sejak berabad-abad. Berdasarkan tempat tumbuh dan berkembangnya *Curcuma Longa* memiliki komponen aktif utama termasuk curcuminoids, monoterpenoids dan sesquiterpenoids dengan 2-9% kurkuminoid yang terdiri dari *curcumin*, *demethoxycurcumin* dan *bis-demethoxycurcumin* serta *cyclic curcumin*. *Curcumin* merupakan komponen terbanyak dan *Curcumin* siklik merupakan komponen terendah. Ketiga kurkuminoid ini, selain *Curcumin* siklik telah terbukti menunjukkan aktivitas anti-oksidan, anti-inflamasi, anti-bakteri, dan anti-karsinogenik yang kuat (Kaur, Saraf, 2011)

Curcumin 1,7-bis-(4¹-hidroksi-3¹-metoksifenil)-1,6-heptadiena-3,5dion) merupakan senyawa , -diketon asiklik diaril yang berwujud kristal kuning jingga. Di alam, *Curcumin* selalu terdapat bersama dengan dua senyawa turunan lainnya yaitu demetoksikurkumin dan bis-

demetoksikurkumin, yang dikenal dengan nama curcuminoid. Stabilitas *Curcumin* dalam media berair dalam berbagai macam pH. *Curcumin* dalam larutan berair mengalami reaksi degradasi hidrolitik. *Curcumin* pada pH<7 cukup stabil praktis tidak larut dalam air, tetapi larut dalam pelarut organik (Ishi, et al 2017).

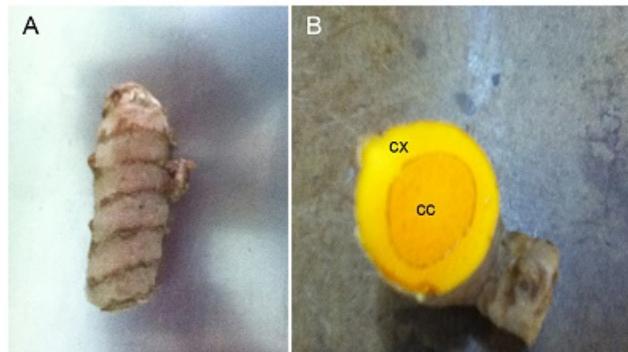
Curcuma Longa merupakan senyawa antioksidan yang baik karena mampu menangkap radikal-radikal bebas (radikal oksigen, nitrogen, superoksida, dan hidroksil) yang berperan sebagai inisiator dalam reaksi oksidasi, menetralkan radikal-radikal bebas tersebut. *Curcuma Longa* mempunyai sejumlah aktivitas farmakologis, meliputi antioksidan, anti-inflamasi, antitrombotik, antimutagenik, antiviral, antimicrobial, antiparasitik (Ishi, et al 2017) Struktur kurkumin dapat dilihat pada Gambar di bawah ini



Gambar 1. Curcumin (1,7-bis(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)hepta-1,6-diena-3,5-dion).(Barzegar, Movahedi, 2011)

Curcuma Longa merupakan tanaman obat berupa semak dan bersifat tahunan (perennial) yang tersebar diseluruh daerah tropis. Tanaman *Curcuma Longa* tumbuh subur dan liat di hutan/bekas kebun. Diperkirakan berasal dari Binar pada ketinggian 1300-1600m dpl, ada juga yang mengatakan bahwa kunyit berasal dari India. Kata Curcuma berasal dari bahasa Arab, Kurkum dan Yunani, karkom. Pada tahun 77-78 SM, Discorides menyebut tanaman ini sebagai Cyperus menyerupai jahe, tetapi

pahit, kelat, dan sedikit pedas, tetapi tidak beracun. Tanaman ini banyak dibudidayakan di Asia Selatan khususnya di India, Cina Selatan, Taiwan, Indonesia (Jawa), dan Filipina. (Priyadarsini, 2014, Sathi, 2017)



Gambar 2. Rimpang *Curcuma longa*

Didaerah Jawa *Curcuma Longa* banyak digunakan sebagai ramuan jamu karena berkhasiat menyejukan, membersihkan, mengeringkan, menghilangkan gatal dan kesemutan. Manfaat utama tanaman *Curcuma Longa*, yaitu: sebagai bahan obat tradisional, bahan baku industri jamu dan kosmetik, bahan bumbu masak, peternakan dll. *Curcuma Longa* merupakan pigmen berwarna kuning dari serbuk kunyit. *Curcuma Longa* tersedia secara komersial yang terdiri atas campuran ketiga golongan kurkuminoid dimana kurkumin sebagai pigmen utamanya. (Heng, 2010)

Curcuma Longa dapat melindungi dari efek trauma akibat stress oksidatif dan menekan inflamasi. Pada penelitian yang dilakukan Madalene Heng, menunjukkan jalur yang di lalui *Curcuma Longa* dalam menghambat trauma ultraviolet. Kemampuan *Curcuma Longa* memblokir multiple target

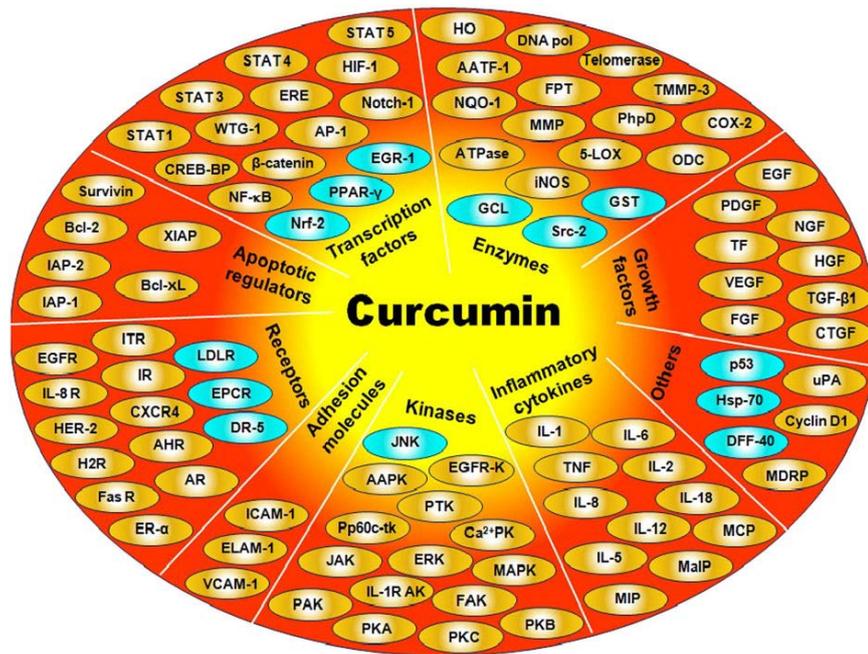
sebagai basis potensial pitokemikal untuk penuaan kulit dan fotokarsinogen. *Curcuma Longa* topikal sebagai inhibitor fosforilase kinase, memegang peranan pada trauma kulit dan melakukan perbaikan dengan meminimalisasikan proses inflamasi. Efek apoptosis mengurangi kerusakan dan sel-sel premalignant kulit sehingga memperbaiki kulit yang rusak akibat ultraviolet. (Heng, 2010)

2.4 Target Molekular Curcumin

Curcumin memengaruhi target molekular dan *signaling pathway* dalam rentang yang luas yang menunjukkan potensi sebagai agen kemoterapeutik. Curcumin dapat berinteraksi dengan sejumlah besar protein seperti *nuclear factor E2-related factor 2* (Nrf2), *Betha Catenin*, NF-KB, p38MAPK, DNA (cytosine-5methyltransferase-1, COX-2, 5 lipoxygenase, PGE2, FOXO3, NOS, ROS, Cyclin D, VEGF, *gluthationcytosolic* PLA2, dan TNF alfa. Adanya kemampuan ini memungkinkan modulasi berbagai *signalling pathway* yang berhubungan dengan berbagai penyakit kronik yang berbeda, menunjukkan bahwa curcumin memiliki polifenol multi target yang kuat. Target molekular tersering dari Curcumin adalah faktor transkripsi, mediator inflamasi, protein Kinase, *enzyme like protein reductase* dan *histone acetyl transferase* (Kunnumakkara, et al 2017).

Curcumin juga memodulasi berbagai *pathway* proetosom dan mengganggu metabolisme glikogen dengan cara menjadi *selective inhibition* enzim Fosforilase Kinase (Kunnumakkara, 2017). *Curcumin* juga

memiliki efek antiinflamasi dengan cara *downregulate* berbagai sitokin seperti TNF alpha, IL-1,IL-6,IL-8,IL-12 , *monocyte chemoattractant protein* (MCP)-1 dikenal pula dengan CCL2 dan IL-1Beta serta berbagai enzim inflamasi dan faktor transkripsi lain (Kunnumakkara, 2017)



Gambar 3. Target Molekular Curcumin (Kunnumakkara,et al,2017)

2.5 Mekanisme Anti-Inflamasi

Berbagai studi penelitian mengungkapkan bahwa *Curcumin* merupakan molekul pleotrofik yang memiliki kemampuan berinteraksi dengan berbagai target molekul yang berperan dalam inflamasi. *Curcumin* memodulasi respon inflamasi dengan cara *down regulate* aktivitas cyclooxygenase (COX-2), lipoxygenase, dan enzim *inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS). Selain itu, Curcumin dapat menghambat produksi

berbagai sitokin inflamasi TNF alfa, IL-1, IL-2, IL-8, IL-12, *Monocyte Chemoattractant Protein* (MCP), menghambat migrasi protein dan *down regulate* mitogen-activated dan Janus kinase. Adanya inhibisi COX-2 dan iNOS berhubungan dengan kemampuan *Curcumin* dalam mensupresi aktifnya *Nuclear Factor Kappa B* (NF-kB). NF-kB merupakan faktor transkripsi yang berperan dalam regulasi inflamasi, proliferasi sel, transformasi dan tumorigenesis. *Curcumin* mensupresi aktivasi NF-kB dan ekspresi gen proinflamasi dengan cara memblok fosforilase faktor inhibisi I-Kappa B Kinase (IkB). Dengan supresi NF-kB, CoX-2 dan iNOS akan *terdown-regulate* sehingga inflamasi dan tumorigenesis dapat dihambat. Pada inflamasi model hewan, *Curcumin* juga menghambat metabolisme asam arakidonat dan inflamasi pada epidermis kulit tikus dengan cara *down regulate* jalur cyclooxygenase dan lipooxygenase (Jurenka J.S., 2009). Selain itu, *Curcumin* dapat pula menghambat sitokin inflamasi dengan berbagai mekanisme. Sebuah studi *In vitro* mengemukakan bahwa *Curcumin* meregulasi aktivasi faktor transkripsi tertentu, seperti *Activating protein-1* (AP-1) dan NF-kB dalam menstimulasi monosit dan makrofag alveolar sehingga berakibat terhambatnya ekspresi gen sitokin inflamasi. Salah satu mekanisme lain yang dilakukan *Curcumin* dalam menghambat produksi sitokin inflamasi adalah *down regulate* protein *intercellular signal* seperti Protein Kinase C yang berperan dalam mediasi inflamasi dan proliferasi sel tumor (Jurenka J.S, 2009).

Curcumin yang diberikan secara topikal efektif untuk berbagai kondisi yang berhubungan dengan jejas pada kulit dan inflamasi. Mekanisme utama yang berperan adalah kemampuan *curcumin* dalam menghambat enzim Fosforilase Kinase. Meskipun terdapat banyak penelitian mengenai efek *curcumin* secara oral, hanya sedikit yang mendalami efikasi topikal *curcumin* secara pre klinik dan uji klinik dan kebanyakan pada model hewan. Partoazer et al dalam penelitiannya mengemukakan tentang efek topikal *curcumin* pada derajat luka bakar tikus dan menemukan bahwa dengan pemberian topikal *curcumin* terdapat perbaikan. Penelitian lain yang dilakukan Li et al menemukan bahwa *curcumin* dapat memberikan efek proteksi terhadap *fotodamage* yang diinduksi oleh UVB. Kant et al dalam penelitiannya menemukan bahwa pemberian topikal *curcumin* mempercepat perbaikan luka pada tikus diabet. Lopez et al dalam penelitiannya mengemukakan bahwa *curcumin* yang diberikan secara topikal memberikan perbaikan kerusakan akibat laser CO₂. Sementara itu sebuah *randomized double blind-placebo controll trial* yang dilakukan Afshariani et al menemukan bahwa topikal *curcumin* efektif mengobati mastitis pada kelompok ibu menyusui (Heng, 2017)

Curcumin memiliki efek anti inflamasi dengan cara mensupresi proliferasi sel-sel tumor, *downregulasi* faktor transkripsi (NF-KB, AP-1), *downregulasi* ekspresi sitokin (TNF alfaa), molekul adhesin permukaan dan Cyclin D serta menghambat aktivitas c-Jun-N Terminal Kinase, protein

tirosin Kinase dan protein serine/threonine kinase (Aggarwal, et al, 2003, Heng, 2017)

Molekul kunci dalam *pathway* injuri pada jaringan sebagai respon terhadap inflamasi adalah aktivator transkripsi, yaitu *nuclear factor- KB* yang akan muncul sekitar 30 menit setelah injuri. Dalam keadaan tidak aktif, NF-KB dalam keadaan berpasangan berada dalam sitoplasma. Ketika teraktivasi oleh karena adanya *injury*, terjadi fosforilasi pada beberapa tempat spesifik serine dan pasangan dimer NF-KB akan translokasi ke nucleus dan berikatan dengan tempat KB di DNA sehingga mengaktifkan sekitar 200 gen untuk inflamasi, migrasi sel, siklus sel dan proliferasi sel. Sebelum bermigrasi ke inti, molekul penghambat translokasi, yaitu I κ B alpha dihilangkan. Proses penghilangan I κ B alpha tersebut memerlukan aktivasi kinase I κ B dan aktivasi I κ B kinase ini memerlukan fosforilasi serin dan tirosin. Fosforilasi kedua serin dan tirosin dicapai dengan dual spesifisitas kinase, yaitu fosforilase kinase (Heng, 2017)

Curcumin merupakan *selective inhibitor* enzim Fosforilase Kinase. Enzim ini bertanggung jawab dalam glikogenolisis yang berperan untuk pembentukan ATP dan berperan penting dalam reaksi fosforilase (Heng, 2017). Enzim Fosforilase akan keluar dalam waktu 5 menit setelah *injury* dan memiliki efek penting dalam aktivasi sel-sel inflamasi, penyembuhan luka dan pembentukan *scar* jaringan (Heng, 2015, Heng 2017).

Curcumin merupakan *selective non-competitive phosphorylase inhibitor* yang dengan cara ini dapat menghambat fosforilase kinase *injury*

pathway yang molekul utama dalam *tissue injury pathway* adalah activator transkripsi yaitu NF-KB, yang akan keluar dalam 30 menit setelah *injury*. Sehingga curcumin akan menghambat NF-KB. NF-KB diketahui bertanggung jawab dalam proliferasi 200 gen dari sel-sel inflamasi (sel T dan makrofag), migrasi sel, siklus sel termasuk Cyclin D, proliferasi epidermis dan proliferasi fibroblast. (Heng, 2013,Heng 2017)

2.62,4 Dinitrochlorobenzene (DNCB)

Komponen organik seperti *1-chloro-2,4-dinitrochlorobenzen (DNCB)* *cycloheximide benzene* sering digunakan sebagai *sensitizer* timbulnya gejala yang menyerupai dermatitis kontak pada mencit (Heo J.H,et al 2018) serta sering digunakan untuk meneliti patogenesis dermatitis kontak (Zhang E.Y., et al 2009)

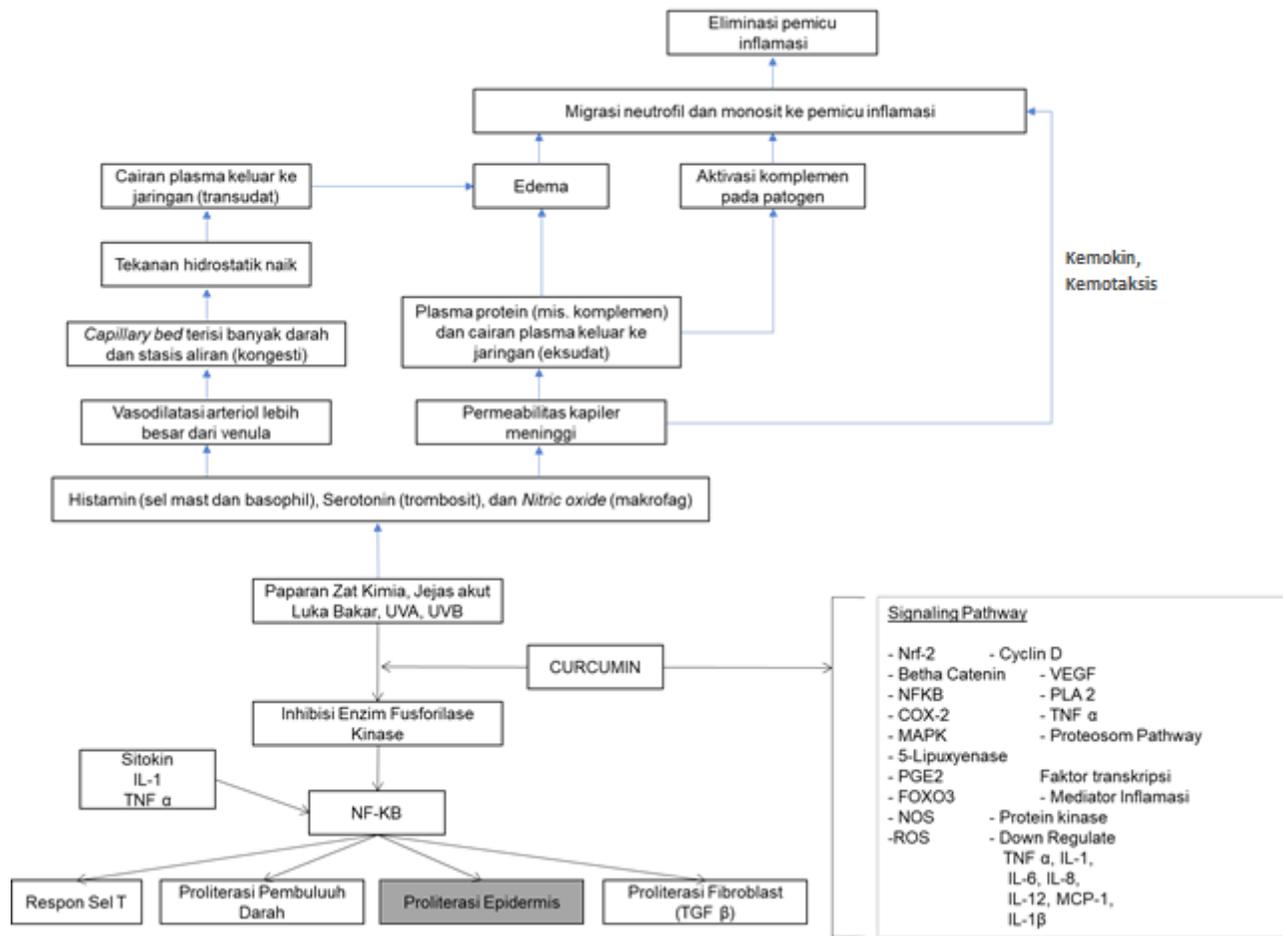
Mekanisme pemberian yang umum dilakukan berupa aplikasi secara topikal. DNCB atau bahan kimia lainnya yang memiliki kesamaan struktur kimia seperti *2,4-dinitrochlorobenzene* dan *picryl chloride*, secara kompleks dengan berbagai protein pada kulit membentuk konjugat kovalen dan berfungsi sebagai immunogen. DNCB bersamaan dengan makromolekul yang termodifikasi kemudian mengalami internalisasi oleh *Antigen Presenting Cell* atau APC, seperti Sel Langerhans, Sel Dendritik dermal, dan makrofag yang kemudian diproses dan dipresentasikan ke Sel T untuk aktivasi. Sekitar 24jam setelah terpapar DNCB, akumulasi Makrofag akan ditemukan di tempat paparan DNCB dan berperan dalam terjadinya gejala

dermatitis seperti pembengkakan telinga mencit dan inflamasi kulit. Salah satu patogenesis terjadinya DNCB menginduksi hipersensitivitas kontak adalah terutama merupakan *T-Cell mediated immune response* (Zhang E.Y., et al 2009)

Sebuah penelitian pada mencit yang menggunakan 1-chloro-2,4-dinitrochlorobenzen (DNCB) secara periodik sebagai *sensitizer*, didapatkan bahwa dengan DNCB 1% yang diberikan selama sensitisasi dan 0,5% DNCB pada tahap elisitasi, didapatkan bahwa pada fase sensitisasi, kelompok mencit menunjukkan gejala menyerupai dermatitis, seperti eritem, skuama dan bulla. Serta secara histologis menunjukkan adanya penebalan epidermis dan lapisan luar dermis, yang tampak sebagai hiperplasia epidermis dan keratinisasi berat meliputi hiperkeratosis dan parakeratosis. Selain itu, didapatkan vasodilatasi dan peningkatan infiltrasi sel imun pada dermis (Heo J.H, et al 2018). Penelitian lain menggunakan 2% DNCB sebagai induktor inflamasi pada mencit dengan interval 7 (tujuh) hari antara awal sensitisasi dengan sensitisasi kedua akan didapatkan pembengkakan kuat pada telinga mencit dan sekitar 8 (delapan) hari atau lebih dari awal sensitisasi, didapatkan hipersensitivitas kuat pada punggung mencit. Selain itu, pada 24jam setelah inisiasi dengan paparan DNCB, pembengkakan pada telinga mencit telah dapat diamati (Zhang E.Y., et al 2009)

2.7 Kerangka Teori

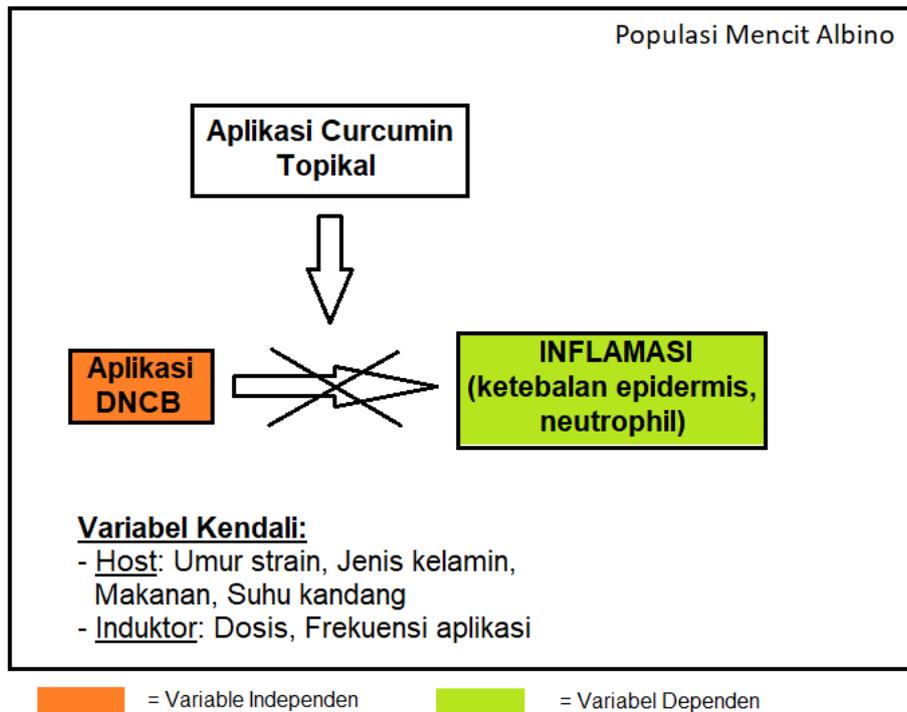
Berdasarkan beberapa teori di atas, didapatkan bahwa paparan zat kimia, agen biologis, jejas akut, luka bakar, paparan UVA UVB dapat menginduksi inflamasi. Netrofil berperan penting dalam inflamasi dan merupakan sel yang pertama kali ada di tempat yang mengalami inflamasi. Inflamasi dapat terjadi dengan berbagai signalling pathway. *Curcumin*, diketahui merupakan molekul pleotrofik yang dapat berinteraksi dengan multipel target *signaling pathway* inflamasi termasuk *down regulate* Cox-2, iNOS, *proteosom pathway* dan menjadi *selective inhibitor* enzim fosforilase dan *men-down-regulate* berbagai sitokin pro inflamasi (TNF alfa, IL-1). *Curcumin* juga memiliki efek proapoptotik (Antoine F dan Girard D, 2013). Namun target molekular tersering *Curcumin* adalah faktor transkripsi, mediator inflamasi, protein kinase. Inhibisi Cox-2 dan iNOS berhubungan dengan kemampuan dalam supresi faktor yang berperan penting dalam regulasi inflamasi, proliferasi sel, transformasi sel dan tumorigenesis, yaitu NF-kB. Supresi NF-KB terjadi dengan cara inhibisi enzim Fosforilase Kinase (Kunnumakkaa, et al 2017, Jurenka J.S, 2009) . Hal ini seperti terdapat dalam bagan kerangka teori di bawah ini:



Gambar 4. Modifikasi Kerangka Teori

(Kunnumakkara, et al 2017, Wahid S, Miskad U.A, 2016, Antoine F dan Girard D, 2013, Jurenka J.S, 2009)

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 5: Kerangka Konsep