

RINGKASAN

A. Latar Belakang

Akne vulgaris (AV) merupakan inflamasi kulit yang paling sering dijumpai, hampir 80% remaja dan dewasa muda pernah menderita kelainan ini. Patogenesis AV belum diketahui dengan jelas, namun beberapa penelitian membuktikan bahwa *dihydrotestosterone* (DHT) merupakan androgen yang paling berperan. *Toll-like receptor-2* (TLR-2) dan *interleukin-8* (IL-8) telah diketahui berperan pada inflamasi AV. Isoflavon kedelai menurut beberapa penelitian telah terbukti sebagai antiandrogen dan antiinflamasi.

B. Rumusan Masalah

Berapa dosis suplementasi isoflavon kedelai per oral yang paling baik di antara variasi dosis 0 mg/hari, 40 mg/hari, 80 mg/hari, 120 mg/hari atau 160 mg/hari yang berpengaruh terhadap penurunan jumlah lesi total pada wanita penderita AV yang memperoleh terapi krim tretinoin 0,025% dan tabir surya SPF 15 selama 4 minggu ?

Bagaimana pengaruh isoflavon kedelai dengan dosis yang paling baik tersebut selama 12 minggu terhadap penurunan jumlah lesi total AV, kadar DHT, TLR-2, dan IL-8 dibandingkan terapi standar?

C. Hipotesis Penelitian

Pemberian suplemen isoflavon kedelai per oral dengan variasi dosis selama 4 minggu pada wanita penderita AV yang mendapat terapi standar dapat menyebabkan penurunan jumlah lesi AV dan diperoleh dosis isoflavon kedelai yang paling baik.

Pemberian suplemen isoflavon kedelai dengan dosis yang paling baik tersebut selama 12 minggu dapat menyebabkan penurunan jumlah lesi AV, kadar DHT, TLR-2, dan IL-8 dibandingkan terapi standar.

D. Tujuan Penelitian

Memperoleh dosis suplementasi isoflavon kedelai per oral yang paling baik di antara variasi dosis 0 mg/hari, 40 mg/hari, 80 mg/hari, 120 mg/hari atau 160 mg/hari terhadap penurunan jumlah lesi pada wanita penderita AV yang mendapat terapi standar berupa krim tretinoin 0,025% dan tabir surya SPF 15 selama 4 minggu.

Membuktikan pemberian suplemen isoflavon kedelai dengan dosis yang terbaik tersebut selama 12 minggu dapat menyebabkan penurunan jumlah lesi total AV, kadar DHT, TLR-2, dan IL-8 dibandingkan terapi standar.

E. Manfaat Penelitian

Penelitian tentang pengaruh isoflavon kedelai terhadap penurunan jumlah lesi, kadar DHT, TLR-2, dan IL-8 pada wanita penderita AV ini, diharapkan dapat bermanfaat terhadap pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, peningkatan kualitas pelayanan kesehatan, dan bermanfaat untuk kepentingan masyarakat.

F. Metoda Penelitian

Rancangan penelitian adalah *true experimental* klinik dengan desain *Randomized pre and post test control design*. Penelitian terdiri dari dua tahap yaitu penelitian pendahuluan dan lanjutan. Besar sampel penelitian pendahuluan adalah 25 orang yang dirandomisasi ke dalam 5 kelompok dan besar sampel penelitian lanjutan adalah 40 orang yang dirandomisasi ke dalam 2 kelompok. Pemilihan sampel penelitian dilakukan secara *consecutive sampling*. Tempat penelitian adalah RS Kersaras Ungaran, Poliklinik PT Ungaran Indah Busana, Klinik Spesialis Kulit dan Kelamin UCM Ungaran dan Derma Clinic Semarang. Lama penelitian pendahuluan adalah 4 minggu, sedangkan lama penelitian lanjutan adalah 12 minggu. Obat standar yang digunakan adalah tretinoin krim 0,025 % dan tabir surya SPF 15, sedangkan isoflavon kedelai yang digunakan berasal dari *NU Health*, California, Amerika Serikat.

Variabel bebas penelitian pendahuluan adalah isoflavon kedelai dengan variasi dosis yaitu 0 mg/hari, 40 mg/hari, 80 mg/hari, 120 mg/hari, dan 160 mg/hari, sedangkan variabel bebas penelitian lanjutan adalah isoflavon kedelai menggunakan dosis yang paling baik dari penelitian pendahuluan, variabel terikat kedua penelitian adalah jumlah lesi AV, variabel antara adalah DHT, TLR-2, dan IL-8. Variabel perancu terkendali adalah umur, BMI, rata-rata konsumsi isoflavon dari makanan berbahan kedelai, skor BDI dan variabel perancu tidak terkendali adalah genetik, etnis, polutan lingkungan, dan bahan kimia.

Analisis data penelitian pendahuluan dan lanjutan dilakukan analisis deskriptif dan inferensial terhadap variabel jumlah lesi, kadar DHT, TLR-2, dan IL-8.

Nilai kepentingan klinis terhadap perubahan derajat keparahan AV yaitu nilai *experimental event rate* (EER), *control event rate* (CER), *relative risk reduction* (RRR) =

CER-EER/CER, *absolut risk reduction* (ARR) = CER-EER, dan *number needed to treat* (NNT) = 1/ARR.

G. Hasil Penelitian

Rerata umur pada penelitian pendahuluan adalah $24,3 \pm 5,71$ tahun, tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok isoflavon kedelai 40 mg, 80 mg, 120 mg, 160 mg dan plasebo (p: 0,307) dan pada penelitian lanjutan adalah $24,4 \pm 5,01$ tahun, tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan (p: 0,710). Tingkat pendidikan sebagian besar sampel lulusan SMA dan tidak ada perbedaan bermakna antara kelima kelompok penelitian pendahuluan (p: 0,408), serta tidak terdapat perbedaan bermakna antara kedua kelompok penelitian lanjutan (p: 0,513). Jenis pekerjaan sebagian besar adalah buruh dan tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok penelitian pendahuluan (p: 0,559) dan tidak berbeda bermakna antara kelompok penelitian lanjutan (p: 0,588). Status pernikahan penelitian pendahuluan yang belum menikah (76,0%) dan menikah (24,0%), sedangkan pada penelitian lanjutan yang belum menikah (67,5%) dan menikah (32,5%) sampel. Seluruh sampel pada penelitian pendahuluan dan lanjutan tidak ada yang sedang mengalami kehamilan dan tidak ada yang menjadi peserta keluarga berencana. Semua sampel penelitian pendahuluan dan lanjutan mempunyai status menstruasi yang teratur. Secara keseluruhan status stres pada penelitian pendahuluan terdapat skor normal sejumlah 20 sampel (80,0%) dan skor ringan 5 sampel (20,0%), tidak ada perbedaan bermakna antara kelima kelompok (p: 0,645) dan pada penelitian lanjutan terdapat skor normal sejumlah 31 sampel (77,7%) dan skor ringan 9 sampel (22,5%), tidak terdapat perbedaan bermakna (p: 0,500). *Body mass index* pada penelitian pendahuluan rata-rata adalah $20,8 \pm 1,39$, tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelima kelompok (p: 0,911), dan pada penelitian lanjutan rata-rata adalah $20,1 \pm 2,20$, tidak terdapat perbedaan bermakna antara kedua kelompok (p: 0,074). Seluruh sampel pada penelitian pendahuluan dan lanjutan tidak terdapat riwayat hiperandrogenisme, tidak mempunyai riwayat penyakit kandungan, tidak sedang mengalami infeksi kulit yang luas, tidak sedang minum obat antibiotika, antioksidan, retinoid oral dan tidak sedang menggunakan obat anti AV. Rerata konsumsi isoflavon per hari dari tempe, tahu, dan susu kedelai pada seluruh sampel pada penelitian pendahuluan adalah $32,7 \pm 6,49$ mg, tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelima kelompok (p: 0,122), dan pada penelitian lanjutan

adalah $32,3 \pm 6,27$ mg, tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok ($p: 0,214$).

Rerata lesi total AV awal penelitian pendahuluan pada kelompok plasebo adalah $112,4 \pm 64,47$, kelompok isoflavon 40 mg $65,4 \pm 58,70$, kelompok isoflavon 80 mg $94,6 \pm 24,07$, kelompok isoflavon 120 mg $88,0 \pm 19,65$, dan isoflavon 160 mg $140,0 \pm 70,92$, kelima kelompok tidak terdapat perbedaan bermakna ($F: 1,436$)($p: 0,259$). Rerata lesi total AV akhir penelitian pada kelompok plasebo adalah $109,8 \pm 59,92$, isoflavon 40 mg $64,4 \pm 60,24$, isoflavon 80 mg $93,2 \pm 26,08$, isoflavon 120 mg $82,4 \pm 22,19$, dan kelompok isoflavon 160 mg adalah $44,8 \pm 32,24$, kelima kelompok terdapat perbedaan penurunan yang bermakna ($\chi^2: 9,866$)($p: 0,001$).

Rerata lesi total AV awal penelitian pendahuluan dari kelima kelompok adalah $100,1 \pm 78,92$, dan akhir penelitian pendahuluan adalah $78,9 \pm 45,85$, terdapat penurunan yang bermakna ($t: 2,525$) ($p: 0,019$).

Lesi AV kelima kelompok pada awal dan akhir penelitian yaitu kelompok plasebo rerata lesi AV awal penelitian adalah $112,4 \pm 64,47$ dan akhir penelitian $109,8 \pm 59,92$, terdapat penurunan yang tidak bermakna ($t: 0,078$)($p: 0,480$). Kelompok isoflavon kedelai 40 mg awal penelitian adalah $65,4 \pm 58,70$ dan akhir penelitian $64,4 \pm 60,24$, terdapat penurunan yang tidak bermakna ($Z: -0,365$)($p: 0,715$). Kelompok isoflavon 80 mg awal penelitian adalah $94,6 \pm 24,07$ dan akhir penelitian $93,2 \pm 26,08$, terdapat penurunan yang tidak bermakna ($t: 0,531$)($p: 0,624$). Kelompok isoflavon kedelai 120 mg awal penelitian adalah $88,0 \pm 19,65$ dan akhir penelitian $82,4 \pm 22,20$, terdapat penurunan yang tidak bermakna ($t: 2,154$)($p: 0,098$). Kelompok isoflavon kedelai 160 mg awal penelitian adalah $140,0 \pm 70,92$ dan akhir penelitian adalah $44,8 \pm 32,24$ terdapat penurunan yang bermakna ($t: 5,034$)($p: 0,007$).

Delta lesi AV kelompok plasebo adalah $-2,6 \pm 7,47$, kelompok isoflavon 40 mg adalah $-1,0 \pm 6,33$, kelompok isoflavon 80 mg adalah $-1,4 \pm 5,90$, kelompok isoflavon 120 mg adalah $-5,6 \pm 5,81$, dan delta kelompok isoflavon 160 mg adalah $-95,2 \pm 42,29$, terdapat perbedaan delta kelima kelompok yang bermakna ($\chi^2: 12,745$) ($p: 0,013$). Perbedaan rerata delta antar kelompok yaitu delta kelompok isoflavon 160 mg lebih besar dibandingkan kelompok

plasebo, isoflavon 40 mg, isoflavon 80 mg, dan isoflavon 120 mg ($Z: -2,611$)($p: 0,009$), sedangkan antar kelompok yang lain tidak terdapat perbedaan delta yang bermakna ($Z > -1,96$)($p > 0,05$).

Rerata lesi total AV awal penelitian lanjutan pada kelompok kontrol adalah $85,0 \pm 45,28$ dan kelompok perlakuan adalah $110,8 \pm 47,46$, tidak terdapat perbedaan bermakna ($Z: -1,650$)($p: 0,099$). Rerata lesi AV akhir penelitian lanjutan pada kelompok kontrol adalah $84,8 \pm 47,83$, sedangkan kelompok perlakuan adalah $34,0 \pm 24,82$, terdapat perbedaan penurunan yang bermakna ($Z: -3,707$)($p: 0,000$).

Rerata lesi total AV kedua kelompok awal penelitian lanjutan adalah $97,85 \pm 47,614$ dan akhir penelitian adalah $59,38 \pm 45,549$, terdapat penurunan yang bermakna ($Z: -4,300$)($p: 0,000$). Rerata penurunan lesi AV masing-masing kelompok yaitu kelompok kontrol pada awal penelitian lanjutan adalah $85,0 \pm 45,28$ dan akhir penelitian $84,8 \pm 47,83$, terdapat penurunan yang tidak bermakna ($t: 0,082$)($p: 0,936$). Kelompok perlakuan awal penelitian lanjutan adalah $110,8 \pm 47,5$ dan akhir penelitian adalah $34,0 \pm 24,82$, terdapat penurunan yang bermakna ($Z: -3,921$)($p: 0,000$).

Delta rerata lesi total AV kelompok perlakuan adalah $-76,8 \pm 28,35$ lebih besar dibandingkan kelompok kontrol $-0,2 \pm 10,97$ ($Z: -5,410$)($p: 0,000$).

Rerata kadar DHT awal penelitian lanjutan pada kelompok kontrol adalah $300,1 \pm 138,01$ pg/ml dan kelompok perlakuan adalah $315,2 \pm 165,07$ pg/ml, tidak terdapat perbedaan bermakna ($Z: -0,609$) ($p: 0,547$). Rerata kadar DHT akhir penelitian lanjutan pada kelompok kontrol meningkat menjadi $397,5 \pm 316,66$ pg/ml, sedangkan kelompok perlakuan terjadi penurunan menjadi $169,5 \pm 62,43$ pg/ml, kedua kelompok terdapat perbedaan yang bermakna ($Z: -4,355$)($p: 0,000$).

Rerata kadar DHT awal penelitian kedua kelompok lanjutan adalah $307,6 \pm 150,38$ pg/ml, dan akhir penelitian $283,5 \pm 253,13$ pg/ml, terdapat perbedaan penurunan yang bermakna ($Z: -2,204$)($p: 0,027$).

Rerata kadar DHT masing-masing kelompok, yaitu kelompok kontrol pada awal penelitian lanjutan adalah $300,1 \pm 138,01$ pg/ml dan akhir penelitian adalah $397,5 \pm 316,66$ pg/ml, terdapat peningkatan yang bermakna ($Z: -3,509$)($p: 0,000$), kelompok perlakuan awal penelitian adalah

315,2±165,07 pg/ml dan akhir penelitian adalah 169,5±62,43 pg/ml, terdapat penurunan yang bermakna (Z:-3,920)(p: 0,000).

Delta kadar DHT kelompok perlakuan adalah -1457,6±159,1 pg/ml lebih besar dibandingkan kelompok kontrol 31,0±37,42 pg/ml (Z: -5,410) (p: 0,000).

Rerata kadar TLR-2 awal penelitian lanjutan pada kelompok kontrol adalah 4505,5±3084,0 pg/ml dan kelompok perlakuan adalah 4574,1±2701,06 pg/ml, tidak terdapat perbedaan bermakna (Z: -1,224)(p: 0,925). Rerata kadar TLR-2 akhir penelitian kelompok kontrol meningkat menjadi 6005,6±3376,66 pg/ml dan kelompok perlakuan terjadi penurunan menjadi 1883,6±2479,04 pg/ml, terdapat perbedaan penurunan yang bermakna (Z: -3,624)(p: 0,000). Rerata kadar TLR-2 awal kedua kelompok lanjutan adalah 4539,8±2862 pg/ml dan akhir penelitian adalah 3944,6±3592,42 pg/ml, terdapat penurunan yang bermakna (Z: -3,624)(p: 0,000). Rerata kadar TLR-2 masing-masing kelompok, yaitu kelompok kontrol pada awal penelitian adalah 4505,5±3084 pg/ml, dan akhir penelitian 6005,6±3376,66 pg/ml, terdapat peningkatan yang bermakna (Z:-2,156)(p: 0,031). Kelompok perlakuan rerata kadar TLR-2 awal penelitian adalah 4574,1±2701,06 pg/ml dan akhir penelitian 1883,6±2479,04 pg/ml, terdapat penurunan yang bermakna (Z:-3,211)(p:0,001).

Delta kadar TLR-2 kelompok perlakuan adalah -2691±3349,1 pg/ml berbeda bermakna dari kelompok kontrol adalah 1500±3541,7 pg/ml (Z: -4,844)(p: 0,000).

Rerata kadar IL-8 awal penelitian lanjutan pada kelompok kontrol adalah 400,3±60,54 pg/ml dan kelompok perlakuan adalah 422,3±73,03 pg/ml, tidak terdapat perbedaan bermakna (Z: -1,244) (p: 0,213). Rerata kadar IL-8 akhir penelitian lanjutan pada kelompok kontrol adalah 334,5±122,74 pg/ml dan kelompok perlakuan adalah 287,7±77,15 pg/ml, terdapat perbedaan penurunan yang bermakna (Z: 3,624)(p: 0,00).

Rerata kadar IL-8 awal penelitian lanjutan pada kedua kelompok adalah 411,31±67,137 pg/ml, akhir penelitian menjadi 311,09±103,917 pg/ml, terdapat penurunan yang bermakna (Z: -4,557)(p: 0,000).

Rerata IL-8 masing-masing kelompok yaitu kelompok kontrol pada awal penelitian lanjutan adalah 400,3±60,54 pg/ml dan akhir penelitian menjadi 334,5±122,74 pg/ml, terdapat penurunan yang bermakna (t: 2,551)(p: 0,020). Kelompok perlakuan pada awal penelitian

adalah $422,3 \pm 73,03$ pg/ml dan akhir penelitian menjadi $287,7 \pm 77,15$ pg/ml, terdapat penurunan yang bermakna (Z: -3,920)(p: 0,000).

Delta kelompok perlakuan adalah $-134,6 \pm 96,53$ pg/ml lebih besar dibandingkan kelompok kontrol $-65,9 \pm 115,47$ pg/ml (Z: -2,705)(p: 0,07).

Hasil tambahan penelitian lanjutan didapatkan perubahan derajat keparahan pada awal penelitian seluruh kelompok tidak terdapat perbedaan bermakna (p: 1,000), sedangkan pada akhir penelitian terdapat perbedaan yang bermakna (p: 0,000), kelompok perlakuan menggunakan isoflavon 160 mg mengalami perbaikan derajat keparahan dan nilai kepentingan klinis yaitu EER = 0,55, CER = 1,0, RRR = 0,45, ARR = 0,45, NNT = 2.

H. Bahasan

Karakteristik pada penelitian pendahuluan dan lanjutan yaitu rerata umur adalah 17-34 tahun hampir sama dengan penelitian AV di Tiongkok (*Jeong, et al. 2011*) dan di Italia (*Di landro, et al. 2012*). Tingkat pendidikan mayoritas tamatan SMA, jenis pekerjaan sebagian besar adalah buruh, dan status pernikahan sebagian besar belum menikah, hal ini hampir sama dengan penelitian AV di Arab Saudi (*Al-Hogail. 2003*). Riwayat kehamilan, keluarga berencana, dan status menstruasi pada penelitian ini sama dengan di Italia (*Di landro, et al. 2012*). Status stres menggunakan skor BDI, secara keseluruhan adalah skor BDI adalah normal, hal ini berbeda dengan penelitian sebelumnya, bahwa penderita AV mengalami stres sedang dan berat (*Henkel, et al. 2002; Lam, et al. 2005*). Rata-rata sampel mempunyai nilai BMI normal, hal ini berbeda dengan penelitian di Italia yaitu BMI merupakan faktor yang berpengaruh terhadap AV (*Di landro, et al. 2012*), dan penderita dengan nilai BMI yang tinggi akan mengalami AV derajat berat (*Hunter and Shaker, 2011*). Seluruh sampel tidak terdapat riwayat hiperandrogenisme, tidak sedang menderita penyakit dalam, penyakit kandungan, infeksi kulit yang luas, tidak sedang minum obat antibiotika, antioksidan, retinoid oral dan menggunakan obat anti AV topikal. Penyebab AV adalah multifaktor yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung (*Zaenglein, et al. 2012; James, et al. 2011; Layton, 2010*). Rerata isoflavon yang dikonsumsi dari makanan berbahan kedelai per hari adalah 32 mg, hampir sama dengan rerata konsumsi di negara Asia, yaitu 24-45 mg per hari (*Charles, et al. 2009*).

Penelitian pendahuluan ini menggunakan dosis isoflavon kedelai yang bervariasi, dengan tujuan untuk melihat *dose response* dan menentukan dosis yang paling baik terhadap penurunan jumlah lesi total AV. Dosis yang dipakai pada penelitian pendahuluan adalah 0 mg/hari, 40 mg/hari, 80 mg/hari, 120 mg/hari dan 160 mg/hari selama 4 minggu, hal ini sesuai dengan regenerasi kulit berkisar 28 hari yaitu lesi AV terjadi perbaikan klinis dini (Gopal and Farahan. 2001). Rerata lesi total AV awal penelitian pendahuluan pada kelima kelompok tidak berbeda bermakna (F: 1,436)(p: 0,259) dan akhir penelitian terdapat perbedaan penurunan yang bermakna (x^2 : 9,866)(p: 0,001). Perbedaan rerata lesi AV pada awal penelitian dibandingkan akhir penelitian yaitu terdapat penurunan lesi AV yang bermakna (t: 2,525)(p: 0,019). Perbedaan penurunan lesi AV pada awal penelitian dan akhir penelitian pada kelompok isoflavon kedelai dosis 160 mg (t: 5,034)(p: 0,007) terjadi penurunan lebih besar dari kelompok lain dengan delta (x^2 : 12,745)(p: 0,013) dan perbedaan delta antar kelompok yaitu kelompok isoflavon 160 mg berbeda bermakna terhadap kelompok plasebo, kelompok isoflavon 40 mg, kelompok isoflavon 80 mg, dan kelompok isoflavon 120 mg (Z:-2,611)(p: 0,009). Hipotesis pemberian suplementasi isoflavon kedelai dengan dosis bervariasi dapat menyebabkan perbedaan penurunan yang bermakna terhadap lesi total AV dan dapat diperoleh dosis yang paling baik adalah terbukti.

Berdasarkan penelitian pendahuluan maka dosis isoflavon kedelai yang digunakan pada penelitian lanjutan adalah 160 mg untuk kelompok perlakuan dan 0 mg untuk kelompok kontrol selama 12 minggu, beberapa penelitian berkaitan dengan terapi AV juga menggunakan jangka pengobatan 3 bulan atau 12 minggu, dengan tujuan mendapatkan perbaikan klinis lesi AV yang stabil (Jeong, et al. 2011). Penelitian lanjutan terdapat rerata lesi total AV awal kelompok kontrol dan perlakuan yang tidak berbeda bermakna (Z: -1,650)(p: 0,099), sedangkan pada akhir penelitian terdapat perbedaan penurunan yang bermakna (Z: -3,707)(p: 0,000). Rerata lesi total AV pada awal dan akhir penelitian mengalami penurunan yang bermakna (Z: -4,300), (p: 0,000). Rerata lesi total AV kelompok kontrol awal dan akhir penelitian mengalami penurunan yang tidak bermakna (t: 0,082)(p: 0,936), sedangkan kelompok perlakuan awal dan akhir penelitian mengalami penurunan yang bermakna (Z:-3,921)(p: 0,000). Delta rerata lesi total AV kelompok kontrol dan perlakuan terdapat perbedaan yang bermakna (Z: -5,410)(p: 0,000). Hipotesis pemberian suplementasi

isoflavon kedelai dengan dosis paling baik pada penelitian pendahuluan yaitu isoflavon kedelai 160 mg menyebabkan perbedaan penurunan lesi total AV yang bermakna adalah terbukti.

Penelitian pengaruh isoflavon kedelai terhadap lesi AV sebelumnya belum pernah dilakukan, tetapi beberapa penelitian telah membuktikan bahwa isoflavon kedelai berpengaruh terhadap androgen (*Throrpe, et al. 2003; Dilingham, et al. 2005; Tanaka, et al. 2009*). Peran hormon androgen pada AV terutama pada wanita dan terdapat korelasi antara DHT dengan jumlah lesi AV pada wanita (*Cappel, et al. 2005; Thiboutot, et al. 2009*). Penelitian efek isoflavon sebagai antiinflamasi dapat dijumpai pada beberapa penelitian yang membuktikan bahwa isoflavon dapat menurunkan sitokin pro-inflamasi (*Huang, et al. 2005; Charles, et al. 2009; Bravers, et al. 2009*). Pengaruh isoflavon kedelai terhadap lesi AV, yaitu terjadi penurunan kadar DHT, perbaikan duktus pilosebaceus, menurunnya sekresi kelenjar sebaceus, perbaikan keratinisasi infundulum duktus pilosebaceus dan kohesi korneosit, menghambat terbentuknya mikrokomedo, komedo tertutup maupun komedo terbuka, dan pada akhirnya yang berakibat terjadi penurunan jumlah lesi AV. Pengaruh isoflavon kedelai dalam menghambat inflamasi pada AV dapat menurunkan jumlah papul, pustul, dan nodul, serta pada akhirnya terjadi penurunan jumlah lesi total AV (*Cappel, et al. 2005; Thiboutot, et al. 2009*).

Pengaruh isoflavon kedelai terhadap kadar DHT pada awal penelitian lanjutan pada kelompok kontrol dan perlakuan, tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($Z: -0,609$)($p: 0,547$). Akhir penelitian pada kelompok kontrol dan perlakuan terjadi penurunan kadar DHT yang bermakna ($Z: -4,355$)($p: 0,000$). Rerata kadar DHT pada kedua kelompok pada awal dan akhir penelitian terjadi penurunan bermakna ($Z: -2,204$)($p: 0,027$). Rerata kadar DHT pada kelompok kontrol awal dan akhir penelitian terjadi peningkatan yang bermakna ($Z: -3,509$)($p: 0,000$), kelompok perlakuan pada awal dan akhir penelitian mengalami penurunan yang bermakna ($Z: -3,920$)($p: 0,000$). Rerata delta pada kelompok kontrol dan perlakuan terdapat berbeda yang bermakna ($Z: -5,410$)($p: 0,000$). Hipotesis pemberian suplementasi isoflavon kedelai dengan dosis paling baik yaitu 160 mg menyebabkan perbedaan penurunan kadar DHT yang bermakna adalah terbukti. Penurunan kadar DHT pada kelompok perlakuan disebabkan oleh pengaruh isoflavon kedelai dosis 160 mg/hari selama 12 minggu, sedangkan

obat standar yang digunakan yaitu krim tretinoin 0,025% terbukti tidak berpengaruh terhadap penurunan DHT, karena pada kelompok plasebo terjadi peningkatan kadar DHT. Sebuah penelitian penggunaan isotretinoin akan mempengaruhi kadar hormon androgen yaitu terjadi penurunan testosteron, DHEAS dan DHT pada pasien AV (*Lookingbill, et al. 1988*). Pengaruh isoflavon terhadap DHT pada penelitian lanjutan ini hampir sama pada penelitian di Inggris, dengan menggunakan isoflavon kedelai bermanfaat menurunkan kadar testosteron dan DHT, namun penelitian tersebut dilakukan pada pria penderita hipertrofi prostat (*Throrpe, et al. 2003*). Penelitian tentang hubungan antara isoflavon kedelai dengan DHT pada penderita AV, belum pernah dilakukan. Peran DHT pada AV yaitu berpengaruh terhadap hipersekresi kelenjar sebacea, hiperkeratinisasi duktus pilosebacea, dan pembentukan mikrokomedo. Hormon DHT merupakan hasil metabolisme dari testosteron melalui aktivitas enzim *5 α -reductase* tipe 1. *Dihydrotestosterone* mempengaruhi sel sebosit dan keratinosit pada infundibulum duktus pilosebacea, akan menyebabkan terjadi diferensiasi seluler, proliferasi, lipogenesis, dan komedogenesis (*Tahir, 2010; Makrantonaki, et al. 2011*).

Pengaruh isoflavon kedelai terhadap kadar TLR-2 pada penelitian lanjutan, yaitu rerata kadar TLR-2 awal penelitian pada kelompok kontrol dan perlakuan tidak berbeda bermakna ($Z: -1,224$)($p: 0,925$). Rerata kadar TLR-2 akhir penelitian pada kelompok kontrol meningkat, sedangkan pada kelompok perlakuan terjadi penurunan bermakna ($Z: -3,624$)($p: 0,000$). Rerata kadar TLR-2 penelitian kedua kelompok pada awal dan akhir penelitian mengalami penurunan yang bermakna ($Z: -3,624$) ($p: 0,000$). Rerata TLR-2 kelompok kontrol pada awal dan akhir penelitian tidak berbeda bermakna ($Z: -2,156$)($p: 0,031$), sedangkan kelompok perlakuan awal dan akhir penelitian terjadi penurunan bermakna ($Z: -3,211$)($p: 0,001$). Delta kadar TLR-2 kelompok perlakuan lebih besar dibandingkan kontrol ($Z: -4,844$)($p: 0,000$). Hipotesis pemberian suplementasi isoflavon kedelai dengan dosis paling baik yaitu 160 mg menyebabkan perbedaan penurunan TLR-2 yang bermakna adalah terbukti.

Hasil penelitian ini terlihat pemberian suplementasi isoflavon kedelai 160 mg dapat menurunkan kadar TLR-2 yang bermakna, sedangkan pada kelompok kontrol terjadi kenaikan yang bermakna. Tretinoin topikal 0,025% sebagai obat standar AV pada penelitian ini tidak berpengaruh terhadap kadar TLR-2, hal ini berbeda yang dengan hasil penelitian *in vitro* bahwa tretinoin dan adapalen dapat menurunkan kadar TLR-2 (*Zaenglein, et al. 2012*). *Toll-like receptor-2* merupakan reseptor spesifik terhadap eksotoksin bakteri ekstra seluler,

gram positif termasuk *P.acnes*. Jumlah reseptor pada permukaan sel tidak konstan, tetapi dapat terjadi peningkatan (*up-regulation*) dan penurunan (*down-regulation*). *Toll-like receptor-2* mempunyai peranan penting untuk mengenali patogen yang disajikan pada agen infeksi, dan memediasi produksi sitokin untuk pengembangan imunitas yang efektif (*Sethi and Charaborty, 2011*). Inflamasi pada AV disebabkan peptidoglikan dinding sel *P.acnes* memicu reseptor TLR-2 pada sel-sel mononuklear dan polimorfonuklear di sekitar folikel sebacea, setelah terjadi ikatan antara TLR-2 dan peptidoglikan akan dilepaskan sitokin-sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-8, IL-12, dan TNF- α (*Zaenglein, et al. 2012*).

Pengaruh isoflavon kedelai terhadap kadar IL-8 pada penelitian lanjutan yaitu rerata kadar IL-8 awal penelitian pada kelompok kontrol dan perlakuan tidak berbeda bermakna (Z: -1,244)(p: 0,213), setelah akhir penelitian pada kelompok kontrol dan perlakuan mengalami perbedaan penurunan yang bermakna (Z: 3,624)(p: 0,00). Rerata kadar IL-8 kelompok kedua kelompok pada awal dan akhir penelitian mengalami penurunan yang bermakna (Z: -4,557)(p: 0,000). Kelompok kontrol pada awal dan akhir penelitian tidak terdapat penurunan kadar IL-8 yang bermakna (t: 2,551)(p: 0,020), sedangkan pada kelompok perlakuan terjadi penurunan yang bermakna (Z: -3,920) (p: 0,000). Delta kelompok perlakuan lebih besar dibandingkan kontrol (Z: -2,705)(p: 0,07). Hipotesis pemberian suplementasi isoflavon kedelai dengan dosis paling baik yaitu 160 mg dapat menyebabkan perbedaan penurunan IL-8 yang bermakna adalah terbukti.

Penurunan IL-8 pada kedua kelompok disebabkan juga oleh tretinoin topikal 0,025% sebagai obat standar AV, hal ini sama dengan hasil penelitian *in vitro* bahwa tretinoin dan adapalen dapat menurunkan kadar IL-8 (*Zaenglein, et al. 2012*). Tretinoin merupakan salah satu retinoid topikal derivat vitamin A, yang berfungsi untuk menormalkan proses proliferasi dan bersifat komedolitik serta sudah digunakan untuk terapi AV sejak 30 tahun yang lalu. Tretinoin merupakan retinoid topikal yang efektif sebagai monoterapi dan menjadi pilihan pertama pada AV non inflamasi atau inflamasi ringan atau sedang. Mekanisme isoflavon kedelai menghambat respon inflamasi adalah melalui inhibisi jalur *nuclear factor-kappa B* (NF-kB), *mitogen-activating protein* (MAP) *kinase* dan beberapa sinyal seluler yang menyebabkan menurunkan ekspresi sitokin pro-inflamasi IL-1, IL-8, dan TNF- α (*Rahman, et al. 2006*). Interaksi isoflavon kedelai dengan tretinoin topikal belum diketahui, sedangkan interaksi dengan obat lain yang diketahui adalah dapat menurunkan efektivitas levotiroksin,

tamoksifen dan warfarin, serta dapat menurunkan absorpsi besi (*Pilsakova, et al. 2010*). Penelitian lain tentang pengaruh isoflavon kedelai yang berkaitan dengan IL-8 belum pernah dilakukan, tetapi sebuah penelitian tentang pengaruh isoflavon kedelai *in vitro* pada kultur kanker prostat manusia, membuktikan bahwa isoflavon akan menurunkan ekspresi IL-8 (*Handayani, et al. 2006*). Penelitian pada sel endotel tikus bahwa isoflavon kedelai dapat menurunkan IL-6 dan IL-8 (*Nagarajan S., et al. 2006*).

Hasil tambahan penelitian lanjutan yaitu derajat keparahan pada awal penelitian pada seluruh kelompok yang tidak berbeda bermakna ($p:1,000$), sedangkan pada akhir penelitian terdapat perbedaan bermakna ($p:0,000$). Derajat keparahan pada kelompok perlakuan terdapat perbaikan klinis yaitu derajat ringan sejumlah 9 sampel, derajat sedang sejumlah 11 sampel, dan tidak didapatkan derajat berat, sedangkan pada kelompok kontrol tidak didapatkan perubahan klinis menjadi derajat ringan, serta derajat menjadi sedang sejumlah 13 sampel dan derajat berat 7 sampel. Nilai kepentingan klinis pada penelitian lanjutan bila proporsi kegagalan pengobatan dianggap *event rate*, maka pada kelompok menggunakan perlakuan dengan isoflavon 160 mg/hari terjadi 11/20 kegagalan atau EER sebesar 55 % atau 0,55, sedangkan pada kelompok plasebo terjadi kegagalan 20/20 atau CER sebesar 100% atau 1,0 dan didapatkan nilai RRR=0,45 menunjukkan pengobatan dengan suplementasi isoflavon 160 mg/hari menurunkan angka kegagalan sebesar 35%, ARR=0,45 menunjukkan perbedaan kegagalan antara kelompok perlakuan dan kontrol sejumlah 35%, dan NNT=2 menunjukkan dua wanita penderita AV yang diterapi dengan suplementasi isoflavon kedelai 160 mg/hari selama 12 minggu diperoleh tambahan 1 kesembuhan atau menghindari 1 kegagalan.

I. Simpulan dan Saran

Pemberian suplemen isoflavon kedelai per oral variasi dosis 0 mg, 40 mg, 80 mg, 120 mg, dan 160 mg/hari selama 4 minggu pada wanita penderita AV yang mendapat terapi standar, menyebabkan perbedaan penurunan jumlah lesi total yang bermakna dan diperoleh dosis yang paling baik yaitu isoflavon kedelai dosis 160 mg/hari.

Pemberian suplementasi isoflavon dengan dosis yang paling baik yaitu dosis 160 mg/hari selama 12 minggu menyebabkan penurunan bermakna terhadap jumlah lesi total AV, kadar DHT, TLR-2, dan IL-8 dibandingkan terapi standar.

Penelitian selanjutnya diperlukan untuk membuktikan manfaat isoflavon sebagai obat baru anti AV per oral atau topikal melalui uji klinis tahap I, II, III dan IV. Efek samping pemberian isoflavon kedelai perlu dievaluasi secara ketat, disamping kelainan di kulit, saluran pencernaan, juga dimonitor efeknya terhadap hormon tiroid, fungsi ginjal, kadar asam urat, fungsi organ reproduksi wanita, dengan dilakukan pemeriksaan laboratorium dan penunjang yang lengkap.

Penelitian yang lebih lanjut juga perlu melakukan pemeriksaan terhadap bakteri *P.acnes*. Faktor lain yang berpengaruh terhadap AV seperti konsumsi makanan produk susu, makanan tinggi lemak dan makanan dengan indeks glikemik tinggi juga perlu dilakukan pemeriksaan. Penyakit yang mempengaruhi kadar DHT, TLR-2, dan IL-8 juga perlu dilakukan pemeriksaan penunjang yang sesuai.

SUMMARY

A. Background

Acne vulgaris (AV) is the most common feature of skin inflammation diseases, almost 80% of adolescent and young adult have experienced this disease. Pathogenesis AV has not been cleared yet, but several researches proved that dihydrotestosterone (DHT) was the main androgen in this setting. Toll-like receptor-2 (TLR-2) and interleukine-8 (IL-8) have been known participate in AV inflammation. Several researches mentioned soy isoflavone as anti-androgen and anti-inflammation.

B. Formulation of the Problems

Which one the best dose of oral soy isoflavone supplementation among the variation of 0, 40, 80, 120, or 160 mg/day that can reduce total counts of lesion in women with AV who obtain treatment tretinoin 0.025% cream and SPF 15 sunscreen in 4 weeks?

If being compared with standard therapy, is that dose which was the best dose can reduce AV lesion counts, level of DHT, TLR-2, dan IL-8?

C. Research Hypothesis

Supplementation soy isoflavone per oral with variance of dose for 4 weeks in women with AV whom got standard therapy can reduce AV lesion counts and get the best dose for treatment.

Giving soy isoflavone supplementation in the best dose in 12 weeks can reduce AV lesion counts, level of DHT, TLR-2, IL-8, compared with standard therapy.

D. Objective of the Research

This research's objective is to get the best dose of oral soy isoflavone supplementation among the variation of 0, 40, 80, 120, or 160 mg/day that can reduce total counts of lesion in women with AV who obtain treatment tretinoin 0.025% cream and SPF 15 sunscreen in 4 weeks.

To prove that supplementation of soybean isoflavone with the best dose during 12 weeks could cause a decrease in the amount of total AV lesions, level of DHT, TLR-2, and IL-8 as compared with control.

E. Benefit of the Research

This research is expected to be useful for the development of science and technology, improvement of health care, and fulfill the public interests.

F. Method of the Research

This research was clinical true experimental with randomized pre and post test control design. The 2 steps research were first research and last research. The samples of first research were 25 persons that randomized in 5 groups and 40 persons for the last research, divided in 2 groups. Sampling was in consecutive sampling. The place of research was in Kearsaras Hospital Ungaran, Polyclinic PT Ungaran Indah Busana, Skin and Venereal Clinic UCM Ungaran, and Derma Clinic Semarang. Length of first research was 4 weeks and length of last research was 12 weeks. Standard therapy was tretinoin 0.025% cream and SPF 15 sunscreen, and the soy isoflavone was originated from NU Health, California, USA.

Independent variables in the first research were the variances doses of soy isoflavone: 0 mg/day, 40 mg/day, 80 mg/day, 120 mg/day, and 160 mg/day, whereas independent variables in the last research were the best dose of soy isoflavone that was gotten from the first research. The dependent variables was AV lesion counts. The between variables were DHT, TLR-2, and IL-8. The confounding controlled variables were age, IMT, averages

consumption of isoflavone from soya-food, BDI score. The confounding uncontrolled variables were genetic, ethnic, environment pollutant, and chemical materials.

Research data were analyzed by descriptive and inferential of variables lesion counts, level of DHT, TLR-2, and IL-8.

The importance clinical value of the degree of AV severity changes were experimental event rate (EER), control event rate (CER), relative risk reduction (RRR) = $CER - EER/CER$, absolute risk reduction (ARR) = $CER - EER$, and number needed to treat (NNT) = $1/ARR$.

G.Results of the Research

The average ages in the first research was 24.3 ± 5.71 years old, no significance differences between isoflavone group of 40 mg, 80 mg, 120 mg, 160 mg, and placebo ($p=0.307$) and in the last research was 24.4 ± 5.01 years old, no significance difference between control and treatment group ($p=0.710$). Level of education most of samples were high school graduate and no difference significances between five groups in first research ($p=0.408$), and no difference significance between two groups in last research ($p=0.513$). Occupation most of samples were labor and no difference significances between five groups in first research ($p=0.559$), and no difference significance between two groups in last research ($p=0.558$). The marital status in the first research was 76.0% unmarried and 24.0%, married, whereas in the last research was 67.5% unmarried and 32.5% married. No samples in first and last research was pregnant or planning participant. All samples had regular menstruation cycle. Stress score was normal in 20 samples (80.0%) and mild stress in 5 samples (20.0%), no significance difference between five groups in first research whereas in the last research ($p=0.645$), stress score was normal in 31 samples (77.7%) and mild stress in 9 samples (22.5%), no significance difference between five groups ($p=0.500$). The average of Body mass index in the first research was 20.8 ± 1.39 , no significance difference between five groups ($p=0.911$), and in the last research was 20.1 ± 2.20 , no significance difference between two groups ($p=0.074$). No samples had history of hyperandrogenism and pregnancy disease, extensive skin infection, no antibiotic, antioxidant, oral retinoid, and anti AV consumption. The average of isoflavone consumption from tempeh, tofu, soy milk in all samples in first research was 32.7 ± 6.49 mg, no significance difference between five groups ($p=0.122$), and in

the last research was 32.3 ± 6.27 mg, no significance difference between five groups ($p=0.214$).

The average of AV lesion counts in first research in placebo group was 112.4 ± 64.47 mg, isoflavone 40 mg group was 65.4 ± 58.70 , isoflavone 80 mg group was 94.6 ± 24.07 , isoflavone 120 mg group was 88.0 ± 19.65 , and isoflavone 160 mg group was 140.0 ± 70.92 , no significance difference between five groups ($F=1.436$; $p=0.259$). The average of AV lesion count in last was in placebo group was 109.8 ± 59.92 mg, isoflavone 40 mg group was 65.4 ± 2.24 , isoflavone 80 mg group was 93.2 ± 26.08 , isoflavone 120 mg group was 82.4 ± 22.19 , and isoflavone 40 mg group was 44.8 ± 32.24 , and there were significance degradation in five groups ($\chi^2=9.866$, $p=0.001$).

The average of AV lesion counts in all groups in the start of first research was 100.1 ± 78.92 , and in the end of first research was 78.9 ± 45.85 , and there was significance degradation ($t=2.525$; $p=0.019$).

The value of AV lesion counts in each group in the start and end of first research was mentioned as follows: The placebo group was 112.4 ± 64.47 in the start and 109.8 ± 59.92 in the end, and there was no significance degradation ($t=0.078$; $p=0.480$). The isoflavone 40 mg group was 65.4 ± 58.70 in the start and 64.4 ± 60.24 , and there was no significance degradation ($Z=-0.365$, $p=0.715$). The isoflavone 80 mg group was 94.6 ± 24.07 in the start and 93.2 ± 26.08 , and there was no significance degradation ($t=0.531$, $p=0.624$). The isoflavone 120 mg group was 88.0 ± 19.65 in the start and 82.4 ± 22.20 , and there was no significance degradation ($t=2.154$, $p=0.098$). The isoflavone 160 mg group was 140.0 ± 70.92 in the start and 44.8 ± 32.24 , and there was significance degradation ($t=5.034$, $p=0.007$).

Delta of AV lesion in placebo group was -2.6 ± 7.47 , isoflavone 40 mg group was 1.0 ± 6.33 , isoflavone 80 mg group -1.4 ± 5.90 , isoflavone 120 mg group was 5.6 ± 5.81 , and isoflavone 160 mg group was -95.2 ± 42.29 . There was significance difference between five groups ($\chi^2=12.745$; $p=0.013$). The value of delta isoflavone 160 mg group more than other groups, and this difference was significance ($Z=-2.611$, $p=0.009$), whereas other groups were no difference in value of each delta group ($Z=-1.96$, $p>0.05$).

The average of AV lesion counts in the start of control group was 85.0 ± 45.28 and treatment group was 110.8 ± 47.46 , no significance difference ($Z = -1.650$, $p = 0.099$). The average of AV lesion counts in the end of control group was 84.8 ± 47.83 and treatment group was 34.0 ± 24.82 . There was significance degradation ($Z = -3.707$, $p = 0.000$).

The average of total AV lesion counts in the start of control group was 97.85 ± 47.614 and in the end of last research was 59.38 ± 45.549 , there was significance degradation ($Z = -4.300$, $p = 0.000$). The average of AV lesion counts in last research in each group was mentioned as follows: The controlled group was 110.4 ± 47.5 in the start and 34.0 ± 24.82 in the end, and there was significance degradation ($Z = -3.921$; $p = 0.000$). The average of delta total AV lesion in treatment group was -76.8 ± 28.35 more than controlled group that was -0.2 ± 10.97 ($Z = -5.410$, $p = 0.000$).

The average of DHT level in the start of last research in controlled group was 300.1 ± 138.01 pg/ml and in treatment group was 315.2 ± 165.07 pg/ml, no significance difference ($Z = -0.609$, $p = 0.547$). The average of DHT level in the end of last research in controlled group was increased to 397.5 ± 316.66 pg/ml and in treatment group was decreased to 169.5 ± 62.43 pg/ml, there was significance difference ($Z = -4.355$, $p = 0.000$). The average of DHT level in both groups in the start of last research was 307.6 ± 150.38 pg/ml and in the end of last research was 283.5 ± 253.13 pg/ml, there was significance lowering ($Z = -2.204$, $p = 0.027$).

The average of level DHT in each group was mentioned as follows: The controlled group was 300.1 ± 138.01 pg/ml in the start of last research and 397 ± 316.66 pg/ml in the end of last research. There was a significance lowering ($Z = -3.920$, $p = 0.000$). The value of delta DHT level in treatment group was -1457 ± 159.1 pg/ml, more than controlled group that was 31.0 ± 37.42 pg/ml ($Z = -5.410$, $p = 0.000$).

The average of TLR-2 level in the start of last research was 4505.5 ± 3084.0 pg/ml in the controlled group and 4574.1 ± 2701.06 pg/ml in the treatment group, no significance difference ($Z = -1.224$, $p = 0.925$). The average of TLR-2 level in the end of last research was increased to $6005.6.5 \pm 3376.66$ pg/ml in the controlled group and decreased to 1883.6 ± 2479.04 pg/ml in the treatment group, there was significance lowering ($Z = -3.624$,

p=0.000). The average of TLR-2 level in the start of last research was 4539.8 ± 2862.0 pg/ml in both groups and in the end of last research was 3944.6 ± 3592.42 pg/ml, there was significance lowering ($Z=-3.624$, $p=0.000$). The average of TLR-2 level in each group was mentioned as follows: In the controlled group was 4505 ± 3084 pg/ml in the start and 6005.6 ± 3376.66 pg/ml in the end, there was significance enhancement ($Z=-2.156$, $p=0.031$). In the treatment group was 4574.1 ± 2701.06 pg/ml in the start and 1883 ± 2479.04 pg/ml in the end, there was significance lowering ($Z=-3.211$, $p=0.001$). The delta of TLR-2 level in treatment group was -2691 ± 3349.1 pg/ml and in controlled group was 1500 ± 3541.7 pg/ml, there was significance difference ($Z=-4.844$, $p=0.000$).

The average of IL-8 level in the start of last research in controlled group was 400.3 ± 60.5 pg/ml and in treatment group was 422.3 ± 73.03 pg/ml, there was no significance difference ($Z=-1.244$, $p=0.213$). The average of IL-8 level in the end of last research in controlled group was 334.5 ± 122.74 pg/ml and in treatment group was 287.7 ± 77.15 pg/ml, there was significance lowering ($Z=3.624$, $p=0.000$). The average of IL-8 level in both groups in the start of last research was 411.31 ± 67.5 pg/ml and in the end was 311.09 ± 103.917 pg/ml, there was significance lowering ($Z=-4.557$, $p=0.000$). Is $422,3 \pm 73,03$ pg/ml and end of study become $287,7 \pm 77,15$ pg/ml, there is significant reduction ($Z: -3,920$)($p: 0,000$).

Treatment group delta is $-134,6 \pm 96,53$ pg/ml bigger compared to control group $-65,9 \pm 115,47$ pg/ml ($Z: -2,705$)($p: 0,07$).

Additional result of advanced study found alteration on severity at the beginning of study all group found no significant difference ($p: 1,000$), while at the end of study there is significant difference ($p: 0,000$), treatment group using isoflavone 160 mg had improvement of severity level and clinical importance value of $EER = 0,55$, $CER = 1,0$, $RRR = 0,45$, $ARR = 0,45$, $NNT = 2$.

H. Discussion

Characteristic in the preliminary and advanced study that is mean of age 17-34 years is similar with the AV study in Tiongkok (Jeong, et al. 2011) and Italia (Di landro, et al. 2012). Education level is mainly highschool graduate, occupation is mostly laborer, and marital status is mostly single, these are similar with AV study in Saudi Arabia (Al-Hogail, 2003).

History of pregnancy, family planning, and menstrual status in this study is the same with study in Italia (Di landro, et al. 2012): Stress status using BDI score, overall BDI score is normal, this is different from previous study that AV patient have moderate and severe stress (Henkel, et al. 2002; Lam, et al. 2005). Sample average has normal BMI value, this is different from study in Italia that BMI is influencing factor in AV (Di landro, et al. 2012), and patient with high BMI value will have severe AV (Hunter and Shaker, 2011). All samples have no history of hyperandrogenism, having no internal disease, obstetric disease, extensive skin infection, taking no antibiotic drug, antioxidant, oral retinoid and using topical anti AV drug. Cause of AV is multifactorial that involved directly or indirectly (Zaenglein, et al. 2012; James, et al. 2011; Layton, 2010). Mean isoflavone consumed from soy food daily is 32 mg, almost the same as mean consumption in Asian countries, which is 24-45 mg daily (Charles, et al. 2009).

This preliminary study use varies dose of soy isoflavone with the purpose to see dose response and to determine the best dose to reduction of total AV lesion. The dose used in the preliminary study is 0 mg/day, 40 mg/day, 80 mg/day, 120 mg/day, and 160 mg/day for 4 weeks, this is consistent with skin regeneration around 28 days whereas AV lesion have early clinical improvement (Gopal and Farahan. 2001). Mean total AV lesion at the start of preliminary study in five groups is not significantly different (F: 1,436)(p: 0,259) and at the end of study there is significant reduction difference (χ^2 : 9,866)(p: 0,001). The difference of AV lesion at the start of study compared with end of study is that there is significant reduction of AV lesion (t: 2,525)(p: 0,019). Difference of AV lesion reduction at the start and end study at the group of soy isoflavone dose 160 mg (t: 5,034)(p: 0,007) the reduction is bigger than other groups with delta (χ^2 : 12,745)(p: 0,013) and delta difference between group that is group isoflavone 160 mg differ significantly with the placebo group, group isoflavone 40 mg, group isoflavone 80 mg, and group isoflavone 120 mg (Z: -2,611)(p: 0,009). Hypothesis that soy isoflavone supplementation with varies dose may cause significant reduction difference in the total AV lesion and may find the best dose has been proven.

Based on preliminary study, the dose of soy isoflavone used on the advanced study is 160 mg for treatment group and 0 mg for control group for 12 weeks, some study related to AV treatment also use therapy period of 3 months or 12 weeks, with the purpose to achieve stable clinical improvement of AV lesion (Jeong, et al. 2011). Advanced study have mean

total AV lesion at the start in control and treatment group is not significantly different (Z: -1,650)(p: 0,099), while at the end of study there is significant reduced difference (Z: -3,707)(p: 0,000). Mean total AV lesion at the start and end of study have significant difference (Z: -4,300), (p: 0,000). Mean total AV lesion of control group at the start and end of study have insignificant reduction (t: 0,082)(p: 0,936), while treatment group at the start and end of study have significant reduction (Z: -3,921)(p: 0,000). Delta mean total AV lesion of control and treatment group have significant difference (Z: -5,410)(p: 0,000). Hypothesis that soy isoflavone supplementation with the best dose at the preliminary study which is 160 mg soy isoflavone cause significant reduced difference of total AV lesion has been proven .

The study on soy isoflavone effect to AV lesion have never been done, but some study have showed that soy isoflavone have effect on androgen (Throrpe, et al. 2003; Dilingham, et al. 2005; Tanaka et al. 2009). Androgen hormone play a role in AV especially in female and there is correlation between DHT and amount of AV lesion in female (Cappel, et al. 2005; Thiboutot, et al. 2009). The study on isoflavone effect as anti-inflammatory can be found in some study that showed that isoflavone can reduce cytokine proinflammatory (Huang, et al. 2005; Charles, et al. 2009; Bravers, et al. 2009). Effect of soy e to AV lesion, that is the reduction of DHT, repair of pilosebaceous duct, decreased secretion of sebaceous gland, improvement of pilosebaceous duct infundibulum keratinization and corneocytes cohesion, hold up the formation of microcomedones, closed comedones or open comedones, and finally cause reduction on the amount of AV lesion. Effect of soy isoflavone in holding up the inflammation in AV may decrease the number of papule, pustule, and nodule, also in the end cause reduction of total AV lesion (Cappel, et al. 2005; Thiboutot, et al. 2009).

Effect of soy isoflavone to DHT level at the start of the advanced study in control and treatment group, found no significant difference (Z: -0,609)(p: 0,547). At the end of study in control and treatment group there is significant reduction on DHT level (Z: -4,355)(p: 0,000). Mean DHT level in both groups at the start and end of study have significant decline (Z: -2,204)(p: 0,027). Mean DHT level in the control group at the start and end of study have increased significantly (Z: -3,509)(p: 0,000), treatment group at the start and end of study have decreased significantly (Z: -3,920)(p: 0,000). Mean delta on control and treatment group have significant difference (Z: -5,410)(p: 0,000). Hypothesis that soy isoflavone supplementation with the best dose of 160 mg cause significant difference on decreased DHT

level have been proven. Decreased DHT level on the treatment group caused by soy isoflavone effect with dose of 160 mg/day for 12 weeks, while the standard drug used that is tretinoin 0,025% cream have been proved has no effect to DHT reduction, because at the placebo group there is increased DHT. A study using tretinoin will effect androgen hormone level where there is decreased testosterone, DHEAS and DHT in AV patient (Lookingbill, et al. 1988). Effect of isoflavone to DHT in the advanced study is similar to the study in Britain, by using soy isoflavone that useful in reducing testosterone and DHT level, but that study is conducted on males with prostate hypertrophy (Throrpe, et al. 2003). The study about the relationship between soy isoflavone and DHT at AV patient, have never been done. The role of DHT in AV is affecting the sebaceous gland hypersecretion, pilosebaceous duct hyperkeratinization, and formation of microcomedones. DHT hormones is the metabolism product of testosterone through the activity of 5α -reductase enzyme type 1. Dihydrotestosterone that affect sebocyte and keratinocyte at the pilosebaceous duct infundibulum, will cause cellular differentiation, proliferation, lipogenesis, and comedogenesis (Tahir, 2010; Makrantonaki, et al. 2011).

Effect of soy isoflavone to TLR-2 level on advanced study that is the mean of TLR-2 level at the start of study in control and treatment group is not significantly differ (Z: -1,224)(p: 0,925). Mean TLR-2 level at the end of study on the control group increased, while at the treatment group there is significant reduction (Z: -3,624)(p: 0,000). Mean TLR-2 level in the study on both groups at the start and end of study have significant reduction (Z: -3,624)(p: 0,000). Mean TLR-2 control group at the atart and end of study have no significant difference (Z: -2,156)(p: 0,031), while treatment group at the start and end of study have significant decrease (Z: -3,211)(p: 0,001). Delta TLR-2 level in treatment group is bigger compared to control (Z: -4,844)(p: 0,000). Hypothesis that supplementation of soy isoflavone sith the best dose of 160 mg cause significantTLR-2 reduction difference have been proven.

The result of this study show soy isoflavone supplementation of 160 mg can decrease TLR-2 level significantly, while in control group it increased significantly. Topical tretinoin 0,025% as AV standard drug in this study do not affect the TLR-2 level, this is different with result of in vitro study that tretinoin and adapalen may reduce TLR-2 level (Zanglein, et al. 2012). Toll-like receptor-2 is the specific receptor to exotoxin of extracellular gram-positive bacteria including *P. acnes*. The number of receptor on the cell surface is not constant, but

there may be increased (up-regulation) and decreased (down-regulation). Toll-like receptor-2 have important role to identify pathogen presented by infectious agent, and mediated cytokine production for effective immunity development (Sethi and Charaborty. 2011). Inflammation in AV is caused by *P. acnes* cell wall peptidoglycan trigger TLR-2 receptor at the mononuclear and polymorphonuclear cells around sebaceous follicle, after binding between TLR-2 and peptidoglycan will release proinflammatory cytokine such as IL-1, IL-8, IL-12, and TNF- α (Zaenglein, et al. 2012).

The effect of soy isoflavone to IL-8 in advanced study that is mean IL-8 level at the start of the study in control and treatment group is not significantly differ (Z: -1,244)(p: 0,213), after the end of study in control and treatment group there are significant difference (Z: 3,624)(p: 0,00). Mean IL-8 level in both groups at the start and end of study have no significant reduction (Z: 2,551)(p: 0,020), while in treatment group there is significant reduction (Z: -3,920)(p: 0,000). Delta group treatment is bigger than control (Z: -2,705)(p: 0,07). Hypothesis that soy isoflavone supplementation with the best dose of 160 mg may cause significant difference in IL-8 reduction have been proven.

Reduction of IL-8 in both groups also caused by topical tretinoin 0,025% as standard drug for AV, this is the same with the result of in vitro study that tretinoin and adapalene may reduce IL-8 level (Zaenglein, et al. 2012). Tretinoin is one of topical retinoid vitamin A derivate, that function to normalize proliferation process and is comedolytic and also have been used for AV therapy since 30 years ago. Tretinoin is topical retinoid that effective as monotherapy and become the first choice in non-inflammation AV or with light or moderate inflammation. The mechanism of soy isoflavone to hold inflammation response is through inhibition of nuclear factor-kappa B (NF- κ B) pathway, mitogen-activating protein (MAP) kinase and some cellular signal that reduce the expression of pro-inflammatory cytokine IL-1, IL-8, and TNF- α (Rahman, et al. 2006). Interaction of soy isoflavone with topical tretinoin is not known yet, while interaction with other drug that already known is may decrease levotiroxine, tamoxifene, and warfarine effectivity, also may reduce iron absorption (Pilsakova, et al. 2010). Other study about the effect of soy isoflavone related to IL-8 have never been done, but a study about the effect of soy isoflavone in vitro in human prostate cancer culture, showed that isoflavone will decrease expression of IL-8 (Handayani, et al.

2006). Study on mice endothel cell show that soy isoflavone may decrease IL-6 and IL-8 (Nagarajan S., et al. 2006).

Additional results of advanced study are severity at the start of study in all groups have no significant difference (p: 1,000), while at the end of study there is significant difference (p: 0,000). Severity at treatment group have clinical improvement that is light disease 9 samples, moderate disease 11 samples, and here there is no severe disease, while in control group there is no clinical change into light disease, also into moderate disease 13 samples and severe disease 7 samples. Clinical importance value in the advanced study if the proportion of treatment failure is considered event rate, then in the treatment group with the isoflavone 160 mg/day there is 11/20 failure or EER value of 55% or 0,55, while in the placebo group there is 20/20 failure or CER value of 100% or 1,0 and the value of RRR = 0,45 show that treatment with isoflavone supplementation 160 mg/day reduce the number of failure 35%, ARR=0,45 show the failure difference between treatment and control group is 35%, and NNT=2 show two female AV treated with soy isoflavone supplementation 160 mg/day for 12 weeks have received additional 1 recovery or avoid 1 failure.

I. Conclusion and Suggestion

Administration of oral soy isoflavone supplementation with varies dose of 0 mg, 40 mg, 80 mg, 120 mg, and 160 mg/day for 4 weeks at female AV patient receiving standard therapy, have caused significant total lesion reduction difference and show the best dose of soy isoflavone of 160 mg/day.

Administration of isoflavone supplementation with the best dose of 160 mg/day for 12 weeks caused significant reduction in total AV lesion, DHT level, TLR-2, and IL-8 compared to the standard therapy.

This study has shown that soy isoflavones useful as a supplement to therapy AV, while to prove the benefits of isoflavones as new drugs anti AV orally or in topical dosage forms, need to proceed with clinical trials phase I, II, III and. Side effects of soy isoflavones need to be evaluated rigorously, in addition to abnormalities in the skin, digestive tract, also monitored the effects on thyroid hormones, renal function, uric acid levels, the function of the female reproductive organs, by laboratory examination and complete investigation.

Further study also need to examine *P. acnes* bacteria. Other factor that influence AV like consumption of dairy food, high fat food and food with high glyceimic index also need to be examined. Disease that effect DHT level, TLR-2, and IL-8 also need to have appropriate supportive examination.