

**PENGARUH EKSTRAK KULIT BUAH NAGA SUPER MERAH
(*HYLOCEREUS COSTARICENCIS*) TERHADAP
EKSPRESI MDA DAN EKSPRESI MMP-3 PADA KULIT**

**(Studi Eksperimental *in vivo* pada Tikus Jantan Galur Wistar
Akibat Paparan UVB)**

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Intan Tri Hardini

MBK. 2015.01.0176

PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG

2023

TESIS

**PENGARUH EKSTRAK KULIT BUAH NAGA SUPER MERAH
(*HYLOCEREUS COSTARICENCIS*) TERHADAP
EKSPRESI MDA DAN EKSPRESI MMP-3 PADA KULIT**

**(Studi Eksperimental *in vivo* pada Tikus Jantan Galur Wistar
Akibat Paparan UVB)**


Disusun oleh :


Intan Tri Hardini
MBK. 2015.01.0176

Telah disetujui oleh :


Pembimbing I,

Pembimbing II,


Prof. Dr. dr. Praseyowati Subchan, Sp.KK(K)
NIDK. 8951110021


Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes
NIK. 210101059

Mengetahui,
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung


Assoc. Prof. Dr. dr. Agung Putra, M. Si. Med.
NIK. 210199050

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar magister di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan ataupun yang belum/ tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.



ABSTRAK

Latar Belakang: Paparan sinar UVB pada kulit dapat mengakibatkan terakumulasinya *Reactive Oxygen Species* (ROS) sehingga akan terjadi peningkatan preoksidasi lipid, salah satunya MDA. ROS pada kulit mengaktivasi sitokin pro inflamasi yang kemudian memicu peningkatan produksi MMP-3 yang disekresikan neutrofil untuk mendegradasi kolagen. *Hylochereus Costaricensis* (buah naga) terutama kulitnya memiliki senyawa aktif berupa antosianin yang berperan sebagai antioksidan dan anti inflamasi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian krim ekstrak kulit buah naga super merah terhadap ekspresi MDA dan ekspresi MMP-3.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian krim ekstrak kulit buah naga super merah terhadap ekspresi MDA dan Ekspresi MMP-3 pada kulit tikus yang dipapar sinar UVB.

Metode: Desain penelitian yang digunakan adalah *randomized post test only control group design*. Sampel yang diteliti sebanyak 24 ekor tikus yang dibagi menjadi 4 kelompok; yaitu kelompok tikus sehat, K- (tikus dengan paparan sinar UVB dosis 160 mJ/cm² selama 5 hari dilanjutkan dengan pemberian *cream base* selama 2 minggu), K+ (tikus dengan paparan sinar UVB dosis 160 mJ/cm² selama 5 hari dilanjutkan dengan pemberian *cream anti wrinkle* selama 2 minggu), P (tikus dengan paparan sinar UVB dosis 160 mJ/cm² selama 5 hari dilanjutkan dengan pemberian krim ekstrak kulit buah naga super merah 10% selama 2 minggu).

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa krim ekstrak kulit buah naga 10% tidak secara signifikan menurunkan ekspresi MDA pada tikus yang dipapar UVB dengan nilai $p > 0,05$. Krim ekstrak kulit buah naga 10% secara signifikan menurunkan ekspresi MMP-3 pada tikus yang dipapar UVB dengan nilai $p < 0,05$.

Kesimpulan: Terdapat penurunan ekspresi MDA dan ekspresi MMP-3 pada tikus model UVB setelah pemberian krim ekstrak kulit buah naga 10%.

Kata Kunci: Paparan UVB, MDA, MMP-3, *Hylocereus Costaricensis*

ABSTRACT

Background: Exposure to UVB rays on the skin can result the accumulation of Reactive Oxygen Species (ROS) so that there will be an increase in lipid pre-oxidation, which one is MDA. ROS in the skin activate pro-inflammatory cytokines which then trigger increased production of MMP-3 secreted by neutrophils to degrade collagen. *Hylocereus Costaricensis* (dragon fruit), especially the skin, has active compounds in the form of anthocyanins which act as antioxidants and anti-inflammatories. The purpose of this study was to determine the effect of super red dragon fruit skin extract cream on MDA expression and MMP-3 expression.

Objective: This study aims to determine the effect of giving a super red dragon skin extract cream on MDA expression and MMP-3 expression on mouse skin exposed to UVB rays

Methods: The research design of this study was a randomized post test only control group design. The samples studied were 24 rats which were divided into 4 groups; namely the group of healthy rats, K- (rats exposed to UVB light at a dose of 160 mJ/cm² for 5 days followed by cream base for 2 weeks), K+ (rats exposed to UVB rays at a dose of 160 mJ/cm² for 5 days followed by giving cream anti wrinkle for 2 weeks), P (rats exposed to UVB rays at a dose of 160 mJ/cm² for 5 days followed by administration of 10% super red dragon fruit skin extract cream for 2 weeks).

Result: The results showed that 10% dragon fruit peel extract cream did not significantly reduce MDA expression in mice exposed to UVB with a $p > 0.05$ value. 10% dragon fruit peel extract cream significantly reduced MMP-3 expression in mice exposed to UVB with a $p < 0.05$ value.

Conclusion: There was a decrease in MDA expression and MMP-3 expression in UVB model mice after administration of 10% dragon fruit skin extract cream.

Keywords: UVB Exposure, MDA, MMP-3, *Hylocereus Costaricensis*

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Intan Tri Hardini
Tempat/tanggal lahir : Semarang, 10 Oktober 1988
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. SD Negeri Sawi 01/02, Semarang : Lulus Tahun 2000
2. SMP Negeri 29, Semarang : Lulus Tahun 2003
3. SMA Negeri 2, Semarang : Lulus Tahun 2007
4. S1 FK UNISSULA, Semarang : Lulus Tahun 2011
5. S1 Profesi Dokter, Semarang : Lulus Tahun 2013
6. Magister Biomedik FK Unissula : Tahun 2020 – sekarang

C. Riwayat Keluarga

Nama Suami : Lilik Setiyawan, ST
Nama Anak : Nathisa Aufa Maziya Setiyawan

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Tuhan atas berkat-Nya, sehingga proposal tesis dengan judul **“Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Naga Super Merah terhadap Ekspresi MDA dan Ekspresi MMP-3 pada Kulit (Studi Eksperimental *in vivo* pada Tikus Jantan Galur Wistar Akibat Paparan UVB)”** ini dapat diselesaikan. Proposal tesis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister bidang Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Penulis ingin menyampaikan terima kasih sedalam-dalamnya kepada :

1. Prof. Dr. Gunarto, S.H., M. Hum. selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Assoc. Prof. Dr. dr. Agung Putra, M. Si. Med. selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
4. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp.KK(K) selaku dosen pembimbing I yang selalu sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya proposal tesis ini.
5. Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes selaku dosen pembimbing II yang selalu sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya proposal tesis ini.
6. Assoc. Prof. Dr. dr. Agung Putra, M. Si. Med., Prof. Dr. Ir. Titiek Sumarawati, M. Kes.; Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF.; selaku dosen penguji I, II, dan III yang telah memberikan masukan untuk mengarahkan agar penelitian ini lebih baik.

7. Seluruh staf dan pengajar di Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang telah memberikan banyak ilmu yang bermanfaat.
8. Orang tua tercinta Bapak Suratno, Ibu Harmuntiasih, Bapak Sulatif, Ibu Puji Sunti Rahayu yang selalu memberikan dukungan dan semangat, sehingga saya dapat menyelesaikan proposal tesis ini.
9. Suami dan anak tercinta, Lilik Setiyawan, Nathisa Aufa Maziya Setiyawan yang selalu memberikan dukungan dan semangat, sehingga saya dapat menyelesaikan proposal tesis ini.
10. Kakak tercinta, Kukuh Prasetyo yang selalu memberikan dukungan dan semangat, sehingga saya dapat menyelesaikan proposal tesis ini.
11. Seluruh teman – teman pengajar FK Unissula yang selalu menyemangati dan memberikan masukan.
12. Segenap staff SCCR (*Stem Cell Cancer Research*) Faklutas Kedokteran Islam Sultan Agung Semarang : Ifan, Ariq, yang telah memberikan dukungan dan membantu dalam menyelesaikan proposal tesis ini.
13. Segenap Staff IBL (*Integrated Biomedical Laboratorium*) Faklutas Kedokteran Islam Sultan Agung Semarang : Bu Dina, Mbak Deby, yang telah memberikan dukungan dan membantu dalam menyelesaikan proposal tesis ini.
14. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuan dalam penyusunan tesis ini, terima kasih atas dukungannya.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan penelitian ini. Oleh karena itu, saran-saran yang membangun dari manapun akan

diterima dengan terbuka. Harapan penulis semoga penelitian ini bermanfaat untuk berbagai pihak.

Semarang, Januari 2023

Intan Tri Hardini



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
ABSTRAK.....	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
RIWAYAT HIDUP.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum.....	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Originalitas Penelitian.....	5
1.5. Manfaat Penelitian.....	7
1.5.1. Manfaat Teoritis.....	7
1.5.2. Manfaat Praktis.....	7

BAB II	TINJAUAN PUSTAKA.....	8
	2.1. Ekspresi MDA.....	8
	2.2. Ekspresi MMP-3	10
	2.4. Photodamage	15
	2.5. Buah Naga Super Merah	20
	2.6. Hubungan Antosianin dan Photoaging.....	22
BAB III	KERANGKA TEORI, KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	24
	3.1. Kerangka Teori.....	24
	3.2. Kerangka Konsep.....	27
	3.3. Hipotesis Penelitian.....	27
BAB IV	METODE PENELITIAN.....	28
	4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian	28
	4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	28
	4.2.1. Populasi/Subjek Penelitian	28
	4.2.2. Sampel Penelitian.....	29
	4.2.3. Teknik Sampling	29
	4.3 Variabel dan Definisi Operasional.....	30
	4.3.1. Variabel	30
	4.3.2. Definisi Operasional Variabel.....	30
	4.4. Bahan Penelitian.....	32
	4.5 Peralatan Penelitian.....	32
	4.5.1. Alat untuk membuat ekstrak kulit buah naga super merah.....	32
	4.5.2. Alat untuk pemeliharaan tikus.....	32
	4.5.3 Alat untuk pembuatan preparate.....	32

4.6. Cara Penelitian	32
4.6.1. Perolehan Ethical Clearance.....	32
4.6.2. Persiapan Sebelum Perlakuan	32
4.6.3. Pembuatan Krim Ekstrak Kulit Buah Naga Super Merah.....	33
4.6.4. Cara Pemberian Krim Ekstrak Kulit Buah Naga Super Merah dan Paparan sinar UVB.....	35
4.6.5. Terminasi Tikus.....	36
4.6.6. Sediaan Biopsi Kulit.....	36
4.6.7. Pemeriksaan Ekspresi MDA	36
4.6.8. Ekstraksi mRNA	38
4.6.9 Analisis Ekspresi PCR	39
4.6.10 Pengamatan Hasil.....	39
4.7. Alur Penelitian	41
4.8. Analisis Data	42
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	43
5.1. Hasil Penelitian	43
5.1.1. Determinasi dan Ekstraksi Kulit Buah Naga Super Merah.....	43
5.1.2. Uji Kualitatif Skrining Fitokimia dan Uji Kadar Flavonoid Total	44
5.1.3. Uji Validasi Animal Model <i>Collagen Loss</i>	46
5.1.4. Hasil Ekspresi MDA pada tikus jantan galur wistar setelah dilakukan pemberian krim ekstrak kulit buah naga	46
5.2. Hasil Ekspresi MMP-3 pada tikus jantan galur wistar setelah dilakukan pemberian krim ekstrak kulit buah naga	48
5.3. Pembahasan.....	50

5.4. Keterbatasan Penelitian.....	53
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	54
6.1. Kesimpulan.....	54
6.2. Saran.....	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN.....	60

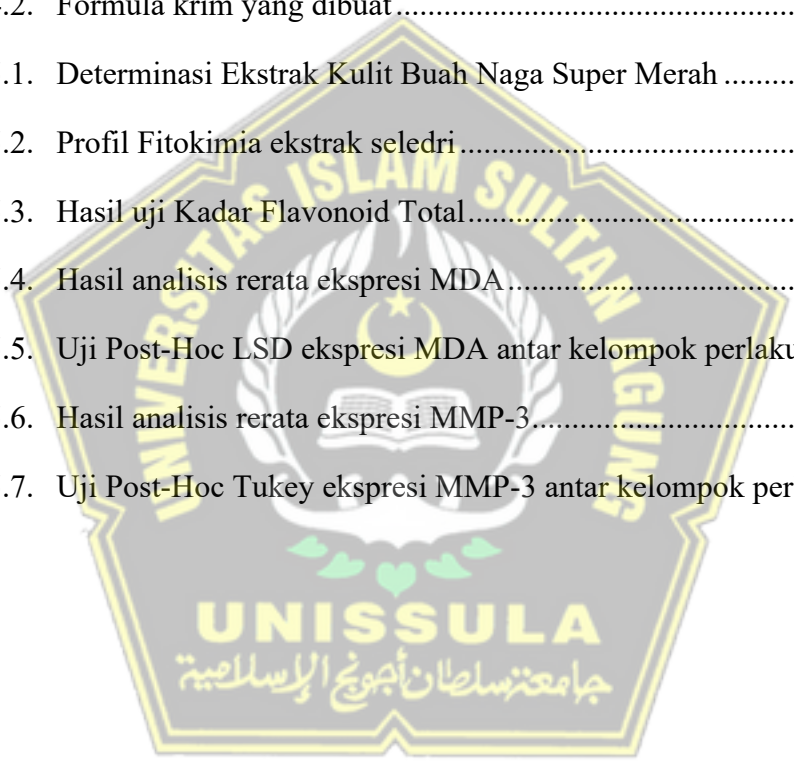


DAFTAR SINGKATAN

AP-1	: <i>Activator Protein-1</i>
cDNA	: <i>Complementary DNA</i>
DEPC	: <i>Diethyl pyrocarbonat</i>
ERK	: <i>Extracellular signal-regulated kinase</i>
JNK	: <i>c-Jun-terminal kinase</i>
IL-1	: <i>Interleukin 1</i>
IL-6	: <i>Interleukin 6</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
MAPK	: <i>Mitogen-activated protein kinase</i>
MMP-1	: <i>Matrix Metalloproteinase 1</i>
MMP-3	: <i>Matrix Metalloproteinase 3</i>
mRNA	: <i>Messenger RNA</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor Kappa B</i>
RNA	: <i>Ribonucleic acid</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
TEWL	: <i>Transepidermal water loss</i>
TGF- β	: <i>Transforming growth factor β</i>
TNF- α	: <i>Tumor necrosis factor α</i>
UVA	: <i>Ultraviolet A</i>
UVB	: <i>Ultraviolet B</i>
MDA	: <i>Malonaldialdehida</i>
LPO	: <i>Level of Lipid Peroxidase</i>
PUFAs	: <i>Polyunsaturated fatty acids</i>
4-HNE	: <i>4-Hydroxynonenal</i>
PAF	: <i>faktor aktivasi platelet</i>
PMN	: <i>Polimorfonuklear</i>
EFGR	: <i>reseptor faktor pertumbuhan epidermal</i>
MED	: <i>Minimal Erythema Dose</i>
RT-PCR	: <i>Reverse Transcription-Polymeraseim Chain Reaction</i>

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Originalitas penelitian	5
Tabel 2.1. Kandungan nilai gizi dalam 100 g buah naga merah	21
Tabel 2.2. Kandungan nilai gizi dalam 100 g kulit buah naga merah	22
Tabel 4.1. Formula dasar krim	34
Tabel 4.2. Formula krim yang dibuat	35
Tabel 5.1. Determinasi Ekstrak Kulit Buah Naga Super Merah	44
Tabel 5.2. Profil Fitokimia ekstrak seledri	45
Tabel 5.3. Hasil uji Kadar Flavonoid Total	45
Tabel 5.4. Hasil analisis rerata ekspresi MDA	47
Tabel 5.5. Uji Post-Hoc LSD ekspresi MDA antar kelompok perlakuan	47
Tabel 5.6. Hasil analisis rerata ekspresi MMP-3	48
Tabel 5.7. Uji Post-Hoc Tukey ekspresi MMP-3 antar kelompok perlakuan	49



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Ilustrasi skematik perubahan kulit menjadi menguning yang disebabkan oleh MDA.....	9
Gambar 2.2.	Tahapan MMP pada Photoaging	13
Gambar 2.3.	Mekanisme molekuler pada photoaging.....	14
Gambar 2.4.	Mekanisme photodamage	17
Gambar 2.5.	Sintesis collagen pada photoaging.....	18
Gambar 2.6.	Buah naga daging super merah (<i>Hylocereus costaricensis</i>)	20
Gambar 3.1.	Kerangka teori	26
Gambar 3.2.	Kerangka konsep	27
Gambar 4.1.	Alur Penelitian.....	41
Gambar 5.1.	Uji Validasi dengan menggunakan pengecatan Masson Trichome Pada Tikus. Gambar (a) kulit tikus tanpa diberikan radiasi UVB. Gambar (b) menunjukkan kulit tikus dengan penurunan kolagen.....	46
Gambar 5.2.	Ekspresi MDA pada kelompok; Kontrol sehat: tikus yang dibiarkan dalam keadaan sehat tanpa perlakuan, Kontrol negatif : tikus dengan perlakuan cream base, Kontrol Positif : tikus dengan perlakuan cream anti wrinkle, Perlakuan: tikus dengan perlakuan cream ekstrak kulit buah naga 10%	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical Clearance</i>	60
Lampiran 2. Laporan Hasil Dererminasi.....	61
Lampiran 3. Analisis Statistik.....	64
Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian.....	68



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Photodamaged adalah kerusakan molekular dan selular yang mengakibatkan perubahan struktur histologi kulit oleh karena paparan sinar matahari.¹ Radiasi UVB dapat menyebabkan kelebihan akumulasi *reactive oxygen species* (ROS), yang mengganggu keseimbangan antara sistem oksidatif dan antioksidan dan menginduksi stres oksidatif yang parah.² Stres oksidatif yang dimediasi ROS menghabiskan banyak antioksidan endogen dalam kulit; mengakibatkan peningkatan peroksidasi lipid seperti: LPO dan Malondialdehyda (MDA).³ MDA sering digunakan sebagai parameter untuk menentukan tingkat stress oksidatif.³ Terbentuknya ROS pada kulit akan mengaktifasi sitokin proinflamasi yang akan memicu peningkatan MMP-3 yang disekresikan neutrofil untuk mendegradasi kolagen.⁴

Paparan sinar UV dalam jangka lama dapat berpengaruh terhadap Ekspresi MDA dan Ekspresi MMP-3 yang akan menyebabkan inflamasi sehingga terjadi sekresi interleukin (IL-6) dan overekspresi enzim MMP yang berefek terhadap perubahan struktur kulit, penebalan serat kolagen, kerusakan serat elastin kolagen tipe I dan perubahan proporsi kolagen pada dermis. Hal tersebut dapat mengakibatkan hilangnya elastisitas, kelembaban, dan kelembutan kulit, menimbulkan bercak hiperpigmentasi dan kerutan atau yang sering disebut dengan photoaging.⁵ Kerusakan kolagen dan elastin lebih parah pada photoaging dibandingkan dengan kulit yang menua secara kronologis.⁶

Perubahan yang terjadi akibat paparan sinar matahari dapat dicegah dengan pemberian nutrisi dari dalam maupun luar, contohnya pemakaian retinoid topical.⁷ Salah satu bahan yang memiliki kandungan antioksidan tinggi yaitu buah naga super merah. Potensi antioksidan yang dimiliki buah naga merah mampu meredakan inflamasi akibat peningkatan ROS. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa ekstrak kulit buah naga super merah memiliki antioksidan yang kuat dengan nilai IC50.^{8,9}

Photodamage dapat menyebabkan 90% masalah kosmetik yang terkait dengan usia. Sebuah penelitian di Queensland Australia terhadap 1539 penduduk yang berusia 20 hingga 55 tahun, menunjukkan perubahan tekstur kulit derajat sedang hingga berat akibat photodamage yaitu 72% pada pria dan 47% pada wanita dibawah usia 30 tahun.¹⁰ Prevalensi kerusakan akibat sinar matahari di Eropa dan Amerika Utara pada penduduk dengan tipe kulit Fitzpatrick I, II dan III sekitar 80-90%, sedangkan pada kulit Asia tingkat keparahannya tidak separah kulit putih pada usia yang sama.¹⁰ Penampilan menjadi perhatian penting beberapa dekade terakhir, dengan penuaan kulit wajah menjadi komponen penting.

Antioksidan endogen merupakan antioksidan yang secara alami diproduksi oleh tubuh. Antioksidan endogen berfungsi sebagai perlawanan terhadap oksidan seperti peroksidase, katalase, dan glutathione. Berbagai bahan alam banyak mengandung antioksidan dan bahan aktif lainnya yang dapat membantu tubuh dalam melawan radikal bebas. Salah satu antioksidan yang dikenal memiliki kemampuan dalam memperbaiki kerusakan akibat

photoaging yaitu Antosianin. Antosianin mampu memodulasi keseimbangan antara oksidan dan antioksidan, melawan penghambatan biosintesis kolagen dengan mereduksi peroksidase lipid.¹¹ Antosianin memiliki berbagai aktivitas biologis termasuk kapasitas antioksidan, anti-inflamasi, dan anti mikroba.¹² Selain itu, antosianin yang diekstraksi dari tumbuhan alami seperti kedelai hitam, anggur, dan beri telah terbukti memiliki efek penundaan penuaan organisme.¹² Pemberian ekstrak blueberry yang diperkaya antosianin secara oral memperbaiki kondisi kulit melalui mekanisme regulasi sitokin inflamasi.¹³

Menurut penelitian sebelumnya, menunjukkan bahwa antosianin yang terkandung dalam ubi jalar ungu dapat memperbaiki kerusakan akibat photodamage.¹⁴ Pemberian krim ekstrak buah naga super merah hanya membuktikan dapat meningkatkan kelembaban pada kulit tikus wistar yang dipapar UVB belum sampai pada pengaruh terhadap ekspresi MDA dan ekspresi MMP-3 pada kulit. Fitokimia seperti polifenol merupakan antioksidan yang baik dan merupakan agen antiphotodamage.¹⁵ Antosianin merupakan polifenol yang banyak terkandung didalam buah naga super merah. Salah satu strategi menangani dampak photoaging yaitu penggunaan agen topikal yang bertujuan memberikan terapi langsung pada bagian yang terdampak langsung photoaging. Pemilihan krim karena pengaplikasiannya mudah menyebar dan mudah dibersihkan, serta tidak mempengaruhi kadar antosianin.¹⁶ Pemberian topikal krim antioksidan untuk mengatasi dampak dari photodamage semakin banyak diteliti. Berdasarkan kasus diatas, penelitian ini akan menguji krim

ekstrak buah naga super merah yang diharapkan dapat memperbaiki photodamage.

1.2. Perumusan Masalah

Apakah pengaruh pemberian krim ekstrak kulit buah naga super merah (*Hylocereus costaricensis*) terhadap ekspresi MDA dan ekspresi MMP-3 pada kulit tikus yang dipapar sinar UVB.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian krim ekstrak kulit buah naga super merah terhadap ekspresi MDA dan Ekspresi MMP-3 pada kulit tikus yang dipapar sinar UVB.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Untuk membuktikan pengaruh pemberian krim ekstrak kulit buah naga super merah dosis 10% terhadap ekspresi MDA pada kulit tikus yang dipapar UV-B
2. Untuk membuktikan pengaruh pemberian krim ekstrak kulit buah naga super merah dosis 10% terhadap ekspresi MMP-3 pada kulit tikus yang dipapar UV-B

1.4. Originalitas Penelitian

Tabel 1.1. Originalitas penelitian

Peneliti	Judul penelitian	Metode Penelitian	Hasil
Devi Haveni (2019)	Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Super Merah (<i>Hylocereus costaricensis</i>) Sebagai Anti Oksidan Dengan Menggunakan Metode (DPPH)	Randomized post test control group design	Ekstrak etanol kulit buah naga super merah memiliki kandungan senyawa antosianin yaitu sianidin yang berpotensi sangat kuat sebagai antioksidan. Melalui metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah naga super merah memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC50 sebesar 58,35 ppm.
Wisurumuni Arachchilage Hasitha, dkk (2021)	Protective Effect of Anthocyanin-Enriched Polyphenols from <i>Hibiscus syriacus</i> L. (Malvaceae) against Ultraviolet B-Induced Damage		Anthocyanin-Enriched Polyphenols from <i>Hibiscus syriacus</i> L (Ahs) protects HaCaT keratinocytes and zebrafish from UVB irradiation-induced damage by inhibiting ER stress-mediated ROS production. AHs could be a novel drug candidate for protection against UVB-induced photoaging and photodamage.
Qi zhi, dkk (2019)	The anthocyanin extracts from purple-fleshed sweet potato exhibited anti-photoaging effects on ultraviolet B-irradiated BALB/c-nu mouse skin		Kulit ubi ungu manis memiliki potensi melemahkan stress oksidatif dan menghambat respon sitokin pro inflamasi seperti IL-6 dan TNF- α . Menurunkan MDA pada tikus yang diberi terapi ekstrak tersebut.
Ahmed Abdellatif, (2020)	A.H dkk Anthocyanins Rich pomegranate cream as a topical formulation with anti-aging activity	Randomized post test control group design	The formulated cream was non-irritant, homogenous, and potentially reduced skin aging when apply in human volunteers skin
I Putu Demas Prasetya (2019)	Krim Ekstrak Kulit Buah Naga Super Merah (<i>Hylocereus costaricensis</i>) Meningkatkan Kelembapan Kulit Tikus Wistar Yang Dipapar Sinar Ultraviolet-B	Randomized post test control group design	Terdapat pengaruh pemberian krim ekstrak kulit buah naga super merah 5% dan 10% terhadap kelembapan kulit tikus wistar yang dipapar UVB

Mira Han, dkk (2018)	Black rice (<i>Oryza sativa</i> L.) extract modulates ultraviolet-induced expression of matrix metalloproteinases and procollagen in a skin cell model	Black rice (<i>Oryza sativa</i> L.) extract significantly increased type I procollagen expression, and decreased MMP-1 and MMP-3 expression in UV-irradiated human dermal fibroblasts (HDF)
Wei Gao, dkk (2018)	<i>Rubus idaeus</i> L. (red raspberry) blocks UVB-induced MMP production and promotes type I procollagen synthesis via inhibition of MAPK/AP-1, NF- κ B and stimulation of TGF- β /Smad, Nrf2 in normal human dermal fibroblasts	<i>Rubus idaeus</i> L. (red raspberry) extract increase expression of TGF- β 1 and p-Smad2/3 proteins by 188.58% and 108.23% compared with UVB group, and reduced Smad7 level by 40.14% compared with UVB irradiation. Therefore <i>Rubus idaeus</i> L. (red raspberry) extract promotes type I procollagen synthesis
Lee (2014)	Dietary fermented soybean suppresses UVB-induced skin inflammation in hairless mice via regulation of the MAPK signaling pathway	Secara invitro pada kultur dan fibroblas keratinosit dan produksi pensinyalan IL-6 dan MAPK. Pengobatan genistein sangat menghambat

Peneliti akan melakukan penelitian dengan menggunakan krim ekstrak buah naga super merah pada mencit yang dipapar UVB. Pada penelitian yang dilakukan Qi zhi dkk mengamati pengaruh antosianin pada kulit ubi jalar ungu terhadap MDA pada mencit yang dipapar UVB. Pada penelitian yang dilakukan Lee mengamati pengaruh fermentasi kedelai mampu menekan peradangan pada kulit akibat paparan sinar UVB.17 Tikus akan diberikan krim sesudah paparan UVB. Belum ada penelitian yang melakukan pengaruh pemberian krim ekstrak buah naga super merah terhadap ekspresi MDA dan ekspresi MMP-3 pada tikus model photodamage induksi UVB.

1.5. Manfaat Penelitian

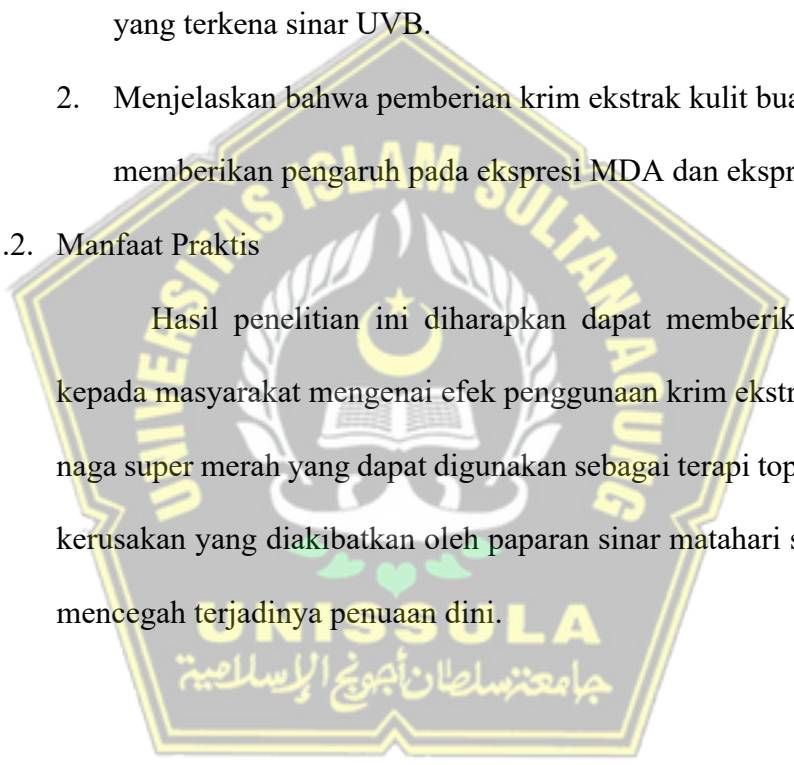
1.5.1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk:

1. Memberikan pengetahuan dan rujukan penelitian selanjutnya mengenai pengaruh pemberian krim yang mengandung antosianin dapat melindungi tubuh dari stress oksidatif pada kondisi kulit yang terkena sinar UVB.
2. Menjelaskan bahwa pemberian krim ekstrak kulit buah naga dapat memberikan pengaruh pada ekspresi MDA dan ekspresi MMP-3.

1.5.2. Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai efek penggunaan krim ekstrak kulit buah naga super merah yang dapat digunakan sebagai terapi topikal terhadap kerusakan yang diakibatkan oleh paparan sinar matahari sehingga bisa mencegah terjadinya penuaan dini.



BAB II

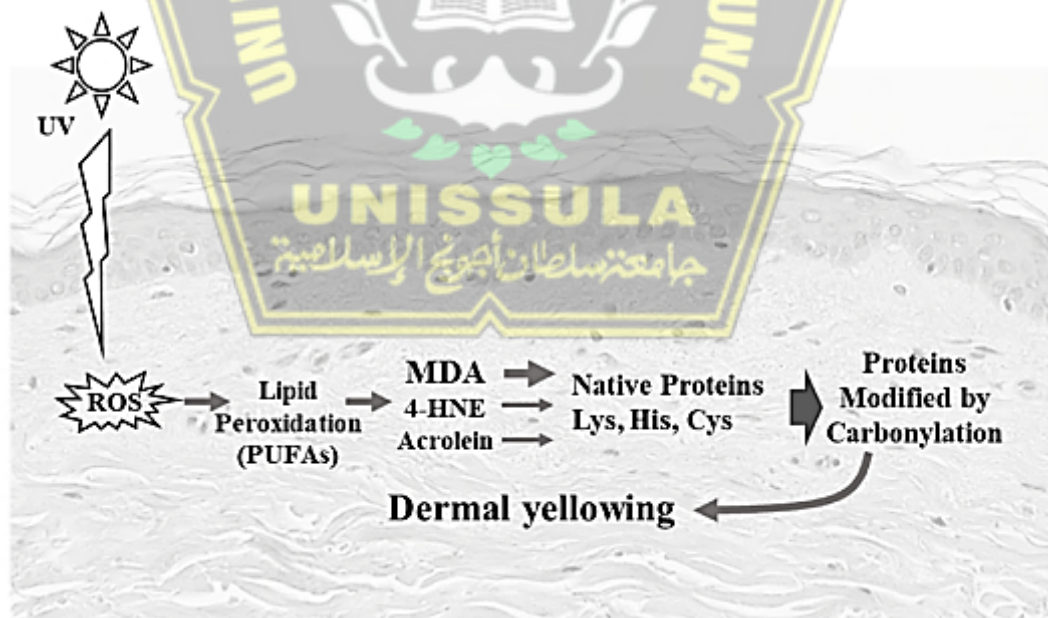
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ekspresi MDA

Radiasi UVB dapat menyebabkan kelebihan akumulasi reactive oxygen species (ROS), yang mengganggu keseimbangan antara sistem oksidatif dan antioksidan dan menginduksi stres oksidatif yang parah.² ROS dapat merusak protein secara langsung atau tidak langsung melalui second messenger, seperti saat peroksidasi lipid. Stres oksidatif yang dimediasi ROS menghabiskan banyak antioksidan endogen dalam kulit; mengakibatkan peningkatan peroksidasi lipid seperti: LPO dan Malondialdehida (MDA).³ LPO adalah penanda photodamage yang diprakarsai oleh ROS sedangkan MDA adalah produk sampingan dari LPO yang menyebabkan penurunan kandungan kolagen. MDA sering diukur untuk memperkirakan tingkat peroksidasi lipid.³

Studi terbaru menunjukkan bahwa karbonilasi protein yang terbentuk dari aldehida yang berasal dari peroksidasi lipid merupakan kontributor utama kerusakan oksidatif pada protein. Aldehyde reactive yang berasal dari oksidasi polyunsaturated fatty acids (PUFAs) terutama MDA, 4-HNE, atau akrolein, dianggap sebagai second messenger radikal bebas; sangat reaktif secara fisiologis, dan sering terlibat dalam berbagai perkembangan penyakit.¹⁸ Di kulit, protein dari matriks ekstraseluler berubah dengan adanya 4-HNE atau MDA. Akumulasi MDA pada kulit yang terpapar sinar matahari lebih tinggi, dibandingkan dengan kulit yang terlindung dari sinar matahari. 4-HNE dan MDA diketahui menyebabkan kerusakan kolagen.

Sebelumnya sebuah penelitian dilakukan pada sampel kulit *ex vivo* dari daerah yang terpapar sinar matahari atau terlindung dari sinar matahari dan pada model setara dermal *in vitro* yang diinkubasi dengan 5 mM MDA, 4-HNE, atau akrolein. Perubahan kulit menjadi kekuningan dan MDA, 4-HNE, dan akrolein dievaluasi. Perubahan warna kulit menjadi kekuningan terdeteksi pada dermis kulit yang terpapar sinar matahari dibandingkan dengan kulit yang terlindung dari matahari dan dalam model *in vitro* setelah penambahan MDA, 4-HNE, atau akrolein. Perubahan kulit menjadi menguning yang lebih kuat tampaknya lebih dimediasi oleh MDA daripada 4-HNE dan akrolein. Pengamatan ini menunjukkan bahwa karbonilasi dermal terutama yang diinduksi oleh MDA menghasilkan rona kuning dermis seperti perubahan kulit menguning yang diamati dalam photoaging kulit.^{18,19}



Gambar 2.1. Ilustrasi skematik perubahan kulit menjadi menguning yang disebabkan oleh MDA¹⁸

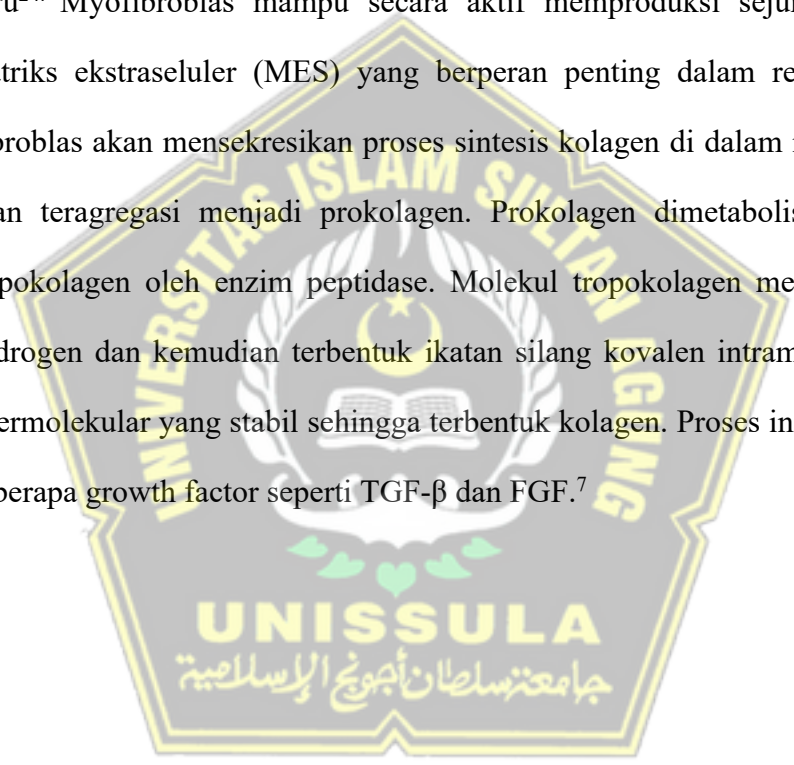
2.2. Ekspresi MMP-3

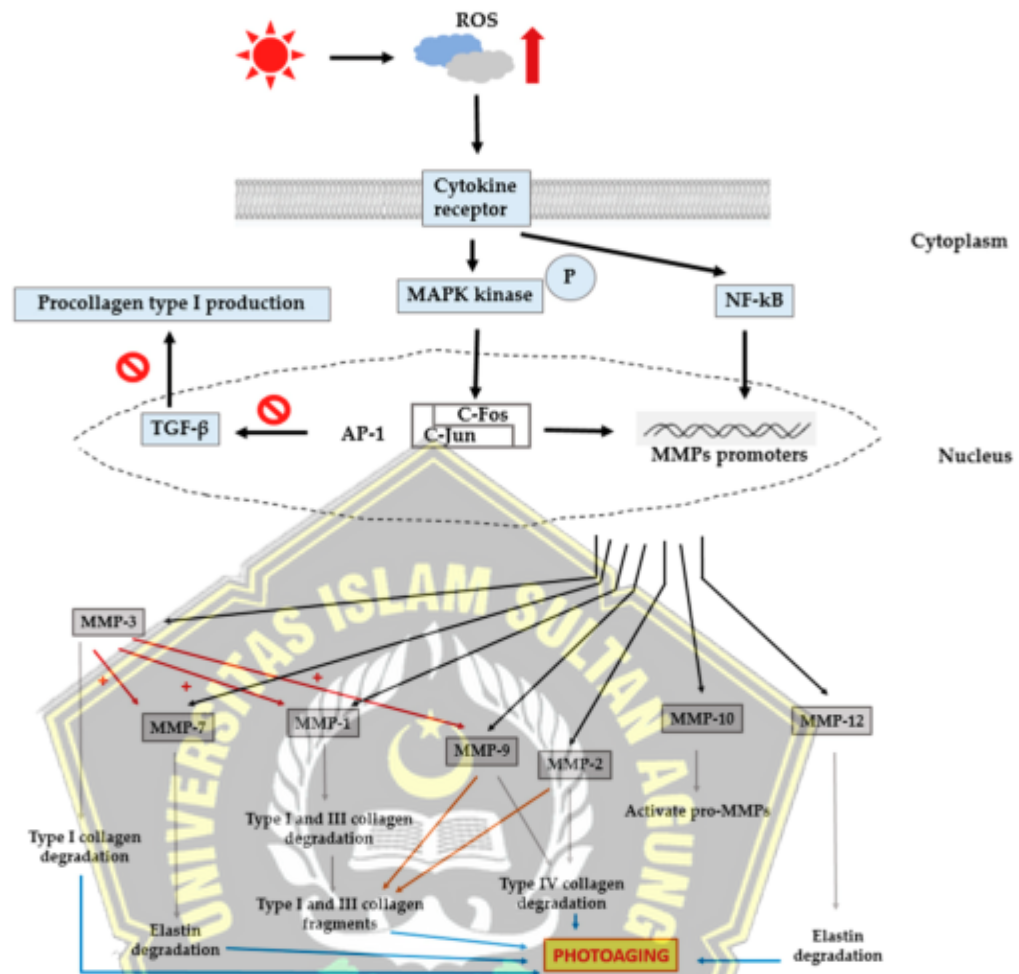
MMP-3 atau Stromelysin-1 adalah enzim yang pada manusia dikodekan oleh gen MMP-3. Gen MMP-3 merupakan bagian dari kelompok gen MMP yang terlokalisasi pada kromosom 11q22. Akumulasi ROS pada kulit mungkin merupakan salah satu peristiwa seluler terpenting setelah paparan matahari karena ia menginduksi perubahan seluler berikut sebagai hasil modifikasi guanin (8-hidro-2-deoksi-guanin), berantai tunggal, dan basa pirimidin teroksidasi, karbonilasi protein membran dan peroksidasi lipid, apoptosis keratinosit epidermal (sel terbakar matahari), pelepasan sitokin proinflamasi keratinosit (terutama IL-1, IL-6, TNF- α) dan reseptor faktor pertumbuhan fibroblas kulit seperti reseptor faktor pertumbuhan epidermal (EGFR), tumor necrosis factor α (TNF- α), faktor aktivasi platelet (PAF) prostaglandin, dan insulin. Faktor transkripsi lain yang penting dalam photoaging adalah faktor nuklir kappa β (NF- $\kappa\beta$) yang juga diaktifkan oleh radiasi UV dan memiliki efek pada protein matriks karena merangsang transkripsi sitokin inflamasi yang mengekskresikan matriks metalloproteinase. Ketika radiasi UV mencapai kulit, sekitar 5% dipantulkan, sedangkan 95% lainnya ditransmisikan, dihamburkan, dan diserap. DNA dan RNA dalam elastin kulit atau kolagen menyerap semua radiasi UV yang mencapai dermis. Selanjutnya, kerusakan inflamasi terjadi pada epidermis dan dermis; dengan demikian, DNA adalah target yang paling mungkin mengalami inflamasi. Ada juga peningkatan ekspresi faktor transkripsi nuklir dan sitokin, menyebabkan peningkatan mediator inflamasi dalam serum dan epidermis, serta osmosis neutrofil dan monosit.²⁰

Selama masa hidup seseorang, kulit manusia terus menerus terkena faktor lingkungan yang berbahaya, seperti sinar UV. Meskipun sinar UV merangsang sintesis vitamin D, yang memiliki efek menguntungkan dalam hal mengatur sistem kekebalan tubuh dan homeostasis kalsium, Paparan sinar UV yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan oksidatif, supresi kekebalan tubuh, degradasi kolagen, photoaging, dan kanker kulit. Iradiasi UV menginduksi sintesis matrix metalloproteinases (MMPs) di kulit. MMP adalah keluarga endopeptidase yang bergantung pada seng yang berperan utama peran dalam degradasi matriks ekstraseluler (ECM), termasuk serat kolagen. Lebih khusus lagi, UV menginduksi aktivasi komponen protein kinase teraktivasi mitogen (MAPK), seperti signal-regulated kinase (ERK) ekstraseluler, c-Jun N-terminal kinase (JNK), dan p38 MAPK (p38), yang di giliran mengatur aktivator protein-1 (AP-1), menyebabkan peningkatan ekspresi MMPs, dan penurunan produksi kolagen.^{17,20,21}

Fibroblas merupakan sel yang paling umum ditemui pada jaringan ikat dan mensintesis beberapa komponen matriks ekstraseluler (kolagen, elastin, retikuler), beberapa makromolekul anionik (glikosaminoglikans, proteoglikans) serta glikoprotein multiadhesiv, laminin, dan fibronectin) yang dapat mendorong perlekatan sel pada substrat. Di samping itu, sel fibroblas mensekresikan sitokin dan beberapa faktor pertumbuhan (growth factors) diantaranya dapat menstimulasi proliferasi sel dan menghambat proses diferensiasi. Ketika sebuah jaringan mengalami kerusakan, fibroblas akan teraktivasi dan berdiferensiasi menjadi myofibroblast.^{22 23}

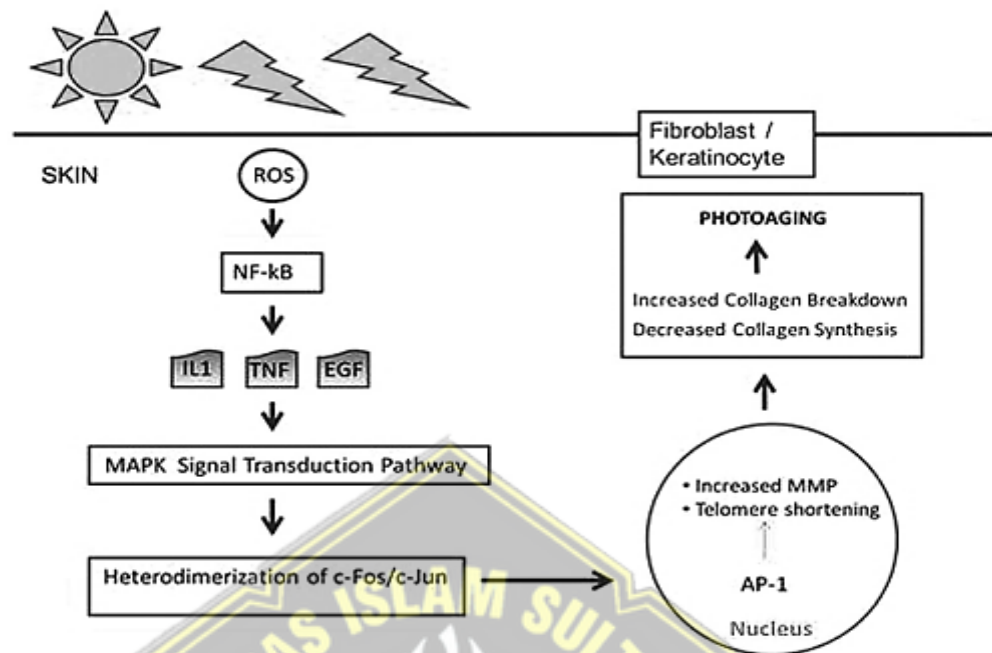
Myofibroblas memiliki fungsi utama mensintesis protein matriks ekstraseluler, yaitu kolagen tipe I-VI dan XVIII, glikoprotein, dan proteoglikan yang mampu mengisi celah di antara kerusakan jaringan. Komponen matriks ekstraseluler lain yang disekresi myofibroblast adalah laminin, thrombospondin, glikosaminoglikan, asam hyaluronat, dan matriks metalloprotein (MMP) yang semakin memperkuat pembentukan jaringan baru²⁴. Myofibroblas mampu secara aktif memproduksi sejumlah protein matriks ekstraseluler (MES) yang berperan penting dalam regenerasi sel. Fibroblas akan mensekresikan proses sintesis kolagen di dalam nukleus yang akan teragregasi menjadi prokolagen. Prokolagen dimetabolisme menjadi tropokolagen oleh enzim peptidase. Molekul tropokolagen memiliki ikatan hydrogen dan kemudian terbentuk ikatan silang kovalen intramolekular dan intermolekular yang stabil sehingga terbentuk kolagen. Proses ini dipengaruhi beberapa growth factor seperti TGF- β dan FGF.⁷





Gambar 2.2. Tahapan MMP pada Photoaging²⁵

Paparan sinar ultraviolet (UV) yang berlebihan menyebabkan luka bakar matahari yang ditandai dengan keratinosit diskeratotik dan vakuolisasi yang dikenal sebagai sel kulit terbakar, spongiosis epidermal ringan, penipisan sel Langerhans, pembesaran sel endotel, dan infiltrasi dermal neutrofilik. Penyebab utama sunburn adalah UVB (290-320 nm). Iradiasi UVB dapat dengan cepat menginduksi ekspresi TNF γ pada keratinosit (KCs), fibroblas dermal dan sel mast, menyebabkan kaskade inflamasi pada kulit.⁸



Gambar 2.3. Mekanisme molekuler pada photoaging⁸

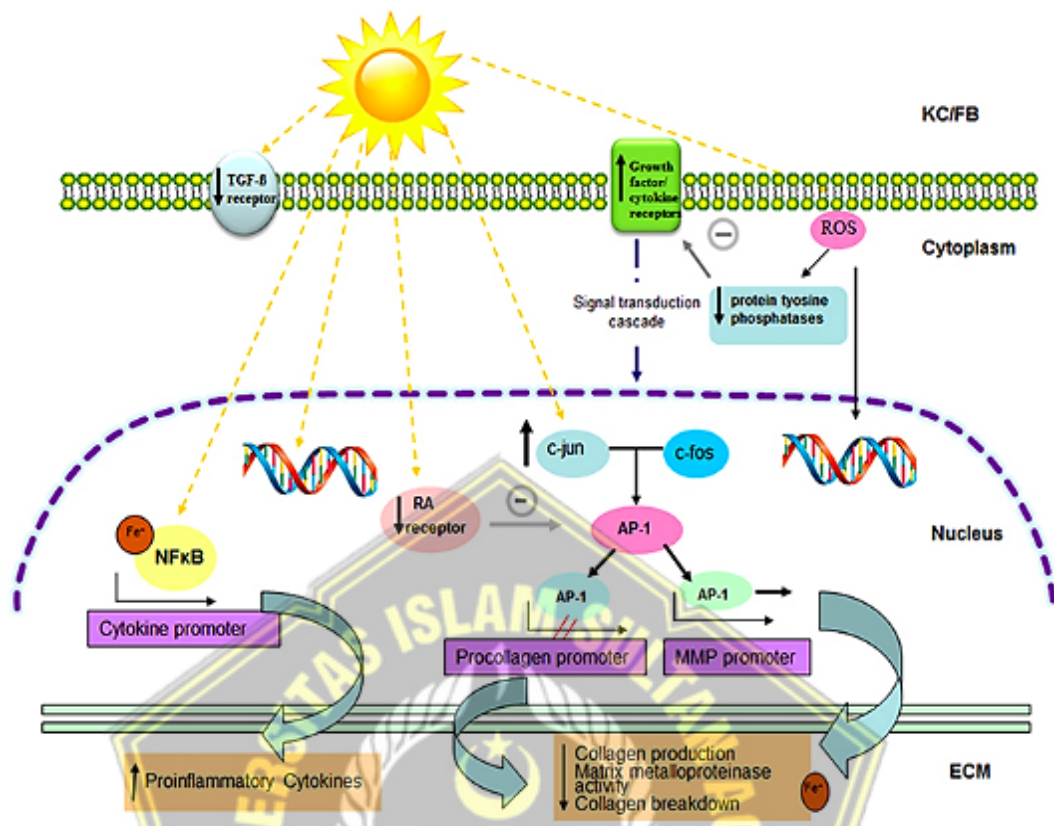
Radiasi ultraviolet memicu pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS), yang pada gilirannya mengaktifkan faktor nuklir kappa-B (NF-kB). Aktivasi faktor transkripsi ini meningkatkan ekspresi sitokin proinflamasi dan faktor pertumbuhan seperti interleukin-1 (IL1), faktor nekrosis tumor (TNF), dan faktor pertumbuhan epidermal (EGF). Jalur protein kinase teraktivasi mitogen (MAPK) diregulasi oleh radiasi ultraviolet.²⁴ Protein aktivator faktor transkripsi 1 (AP-1) terbentuk dari heterodimerisasi prekursor faktor transkripsi c-Fos dan c-Jun. Ini mempotensiasi efek matrix metalloproteinases (MMPs), yang menyebabkan degradasi kolagen dan penghambatan prokolagen. Radiasi ultraviolet juga memperburuk fotoaging dengan memperkuat proses pemendekan telomer.⁸

2.4. Photodamage

Photodamage atau penuaan kronologis bergantung pada tingkat paparan sinar matahari dan jumlah melanin pada kulit individu.²⁷ Sinar ultraviolet dapat dibagi menjadi tiga jenis menurut panjang gelombangnya: UVA (320-400 nm), UVB (280-320 nm), dan UVC (200-275 nm). Sinar UVC umumnya diserap oleh lapisan ozon dan jarang mencapai permukaan bumi, sedangkan sinar UVA dan UVB dapat mencapai dermis dan epidermis kulit²⁸. UVB lebih aktif secara biologis daripada UVA, UVB dianggap sebagai penyebab utama photodamage.³ Tanda klinis berupa keriput, pigmentasi, kulit kasar, kulit kering, kulit kasar, telangiectasis. Perubahan sering terjadi pada bagian tubuh yang sering terpapar sinar matahari seperti wajah, leher, tangan, lengan, punggung kaki. Paparan sinar UVB dapat menstimulasi berbagai macam ROS salah satunya adalah NO. Terjadi peningkatan kadar NO setelah 24 jam paparan UVB yang memicu lesi pada kulit akibat peroksidase lipid, terbentuknya nitrotirosine dan menurunnya proliferasi sel²⁷. Sinar matahari yang berlebihan menimbulkan ROS yang berlebihan yang memulai kaskade transduksi sinyal. MMP-1 disekresikan oleh fibroblast dan keratinosit sebagai respon adanya stress oksidatif dari paparan sinar matahari.

Dermis sebagian besar terdiri dari jaringan ikat dimana peran utamanya memberikan lapisan yang kuat dan fleksibel. Jaringan ikat dermal mengandung kolagen dan elastin. Kolagen merupakan volume terbesar kulit dan memberikan kekuatan tarikan, sedangkan elastin berkontribusi dalam elastisitas dan ketahanan. Molekul kolagen saling terikat satu sama lain sehingga tersusun tumpang tindih menjadi serat kolagen yang kuat yang

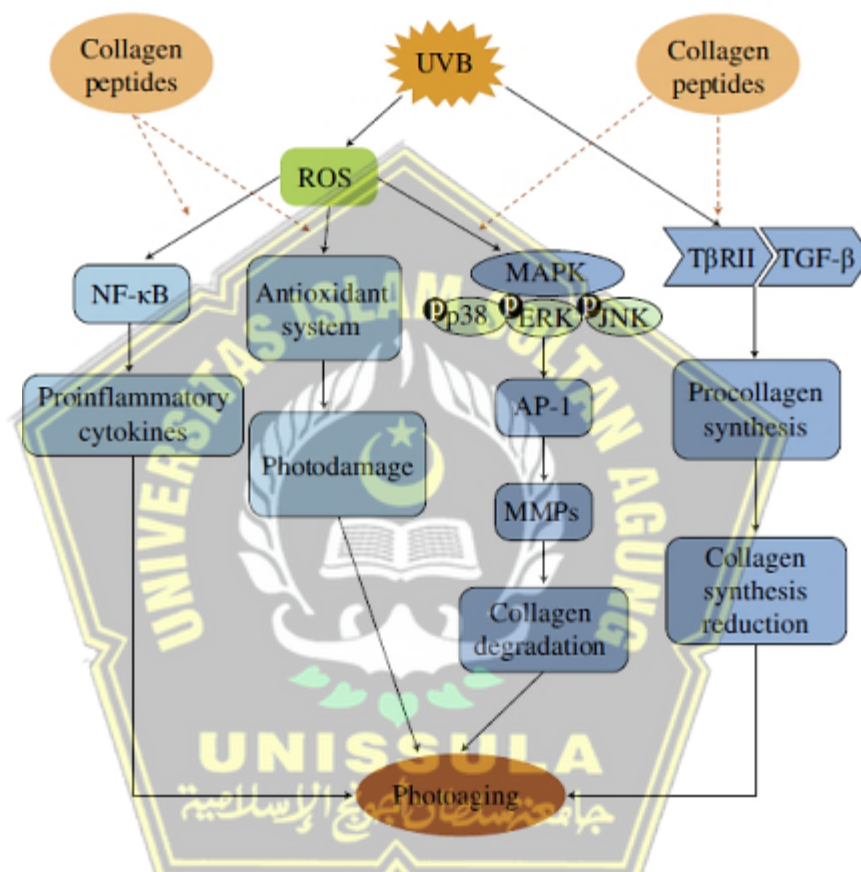
memberi kekuatan tarikan pada jaringan tersebut. Kolagen utama yang terlibat dalam arsitektur dan fisiologi kulit adalah tipe pembentuk fibril, terutama Tipe I dan Tipe III. Pada kulit usia muda, kolagen tipe I terdiri dari 80 %. Tipe III umumnya ditemukan bersama Tipe I dan biasanya mewakili sekitar 15% kolagen kulit. Kolagen tipe I, prototipe dan juga anggota yang paling melimpah, memiliki struktur heliks rangkap tiga rantai panjang, terdiri dari heterotrimer dari dua rantai $\alpha 1$ yang identik dan satu rantai $\alpha 2$. Kolagen terus-menerus disintesis, didalam matrik ekstraseluler akan didegradasi oleh enzim, khususnya MMP. Pergantian kolagen ini cepat selama perkembangan dan kemudian diam selama tahun-tahun dewasa tetapi meningkat lagi di kemudian hari untuk mengkompensasi kerusakan kumulatif yang terkait dengan penuaan kronologis dan photoaging. Saat kadar kolagen mulai menurun, struktur kolagen menjadi lebih rapuh yang menyebabkan melemahnya dukungan struktural kulit. Kulit kehilangan volume dan kekencangan dan mulai menipis dan berkerut²⁹. Dua regulator utama dalam proses produksi kolagen yaitu TGF- β dan AP-1. TGF- β memiliki peran dalam meningkatkan produksi kolagen, sedangkan AP-1 menghambat produksi dan memecah kolagen. Keduanya dipengaruhi oleh kadar ROS dalam tubuh.



Gambar 2.4. Mekanisme photodamage³

ROS yang diinduksi radiasi UVB juga dapat merangsang transduksi sinyal dan mengaktifkan sitokin-sitokin inflamasi, hal ini dapat mengaktifkan protein kinase, salah satunya adalah MMP.³⁰ Aktivasi MMP atau yang disebut matrix metalloproteinase, dapat menyebabkan degradasi kolagen dan jaringan serat elastis di dermis. Secara spesifik MMP-1 dapat mendegradasi susunan protein kolagen tipe I dan III pada dermis, maka dari itu photodamage memberikan salah manifestasi yaitu berupa kerutan.³⁰ Selama pertumbuhan dan perkembangan sel, TGF- β diaktifkan. TGF- β menempel pada reseptornya dan mengatur reseptor protein Smad (R-Smad) seperti Smad2, Smad3. Kemudian sinyal diteruskan ke intraseluler dan meningkatkan sintesis prokolagen tipe I. Namun karena adanya ROS yang disebabkan oleh radiasi

UVB, penempelan TGF- β pada reseptornya menjadi tidak stabil dan melemah. Selain itu dengan adanya ROS ekspresi protein Smad7 akan meningkat, kemudian menempel pada reseptor R-Smad dan TGF- β . Akibatnya sinyal transduksi sintesis prokolagen tipe I akan terhambat.³¹



Gambar 2.5. Sintesis collagen pada photoaging⁶

Adanya peningkatan ROS mengaktifkan jalur MAPK. MAPK merupakan keluarga enzim yang terdiri dari tiga jenis yaitu ERK, c-Jun, c-Fos, dan p38 kinase. Aktivasi jalur MAPK melalui reseptor tirosin kinase mengaktifasi ekspresi c-Jun dan c-Fos akan membentuk AP-1 yang berperan penting dalam regulasi transkripsi MMP-1. Selain itu AP-1 juga berperan dalam menghambat sinyal TGF-beta yang merupakan regulator mayor produksi prokolagen tipe 1 kulit. Terganggunya jalur TGF-beta mengarahkan

pada penurunan sintesis kolagen. Factor lain yang teraktivasi karena radiasi sinar UV yaitu Nf-kB akan meregulasi ekspresi growth factor, kemokin, sitokin dan molekul sel adhesi. Aktivasi NF-kB mengakibatkan up regulasi dari MMP-1³². Kerusakan kulit diikuti oleh perbaikan kulit namun terjadi secara tidak sempurna, akumulasi jaringan parut menghasilkan defisit integritas struktural dari dermis. AP-1 menyebabkan peningkatan kerusakan kolagen, menjadi tinggi dan tetap tinggi kadarnya dalam 24 jam setelah paparan sinar radiasi. Penurunan sintesis prokolagen terjadi dalam waktu 8 jam setelah paparan sinar UV. Akumulasi dari paparan sinar UV akan membentuk *solar scar* yang akan bermanifestasi sebagai kerutan. Pemecahan kolagen selalu diikuti dengan sintesis dan perbaikan, namun hampir semua proses penyembuhan luka menyisakan bekas yang secara klinis tidak tampak. Bersama dengan bertambahnya usia dan faktor eksternal, terjadi penumpukan *solar scar* dan membentuk kerutan³³.

Prokolagen tipe I merupakan precursor dari kolagen tipe I yang merupakan salah satu penyusun struktur kulit. TGF- β /Smad sangat penting untuk sintesis kolagen tipe I di dermis. TGF- β merupakan sitokin yang penting untuk meregulasi sintesis matriks ekstraseluler termasuk kolagen, elastin dan fibronectin. TGF- β memiliki 2 tipe reseptor, yaitu reseptor TGF- β tipe I (T β RI) dan reseptor TGF- β tipe 2 (T β RII). TGF- β Bersama dengan Smad akan membentuk suatu pathway yang mengatur regulasi kolagen tipe I. Pertama TGF- β akan menempel pada T β RII yang menghasilkan fosforilasi reseptor yang ditransduksi T β RI, yang dapat mengaktifkan Smad2 dan Smad3. Setelah aktifasi Smad2 dan Smad3 bersama Smad4 akan membentuk suatu kompleks yang akan dibawa ke nucleus dan mengikat promoter transkripsi prokolagen

untuk mensintesis kolagen.⁶ Namun karena adanya ROS yang disebabkan oleh radiasi UVB, penempelan TGF- β pada reseptor T β RII menjadi tidak stabil dan melemah.³¹ Selain itu dengan adanya ROS ekspresi protein Smad7 akan meningkat, kemudian menempel pada reseptor T β RI dan mengganggu fosforilasi Smad2 dan Smad3. Akibatnya sinyal transduksi sintesis prokolagen tipe I akan terhambat.⁶

2.5. Buah Naga Super Merah

Buah naga merupakan tumbuhan yang berasal dari daerah beriklim tropis. Buah naga mulai dikenal di Indonesia sekitar tahun 2000 dan bukan dari budidaya sendiri, melainkan diimpor dari Thailand. Tanaman ini mulai dikembangkan sekitar tahun 2001 di beberapa daerah di Jawa Timur di antaranya, Kabupaten Pasuruan, Mojokerto, Jember dan sekitarnya.

Buah naga adalah buah sejenis pohon kaktus. Daging buah naga berwarna putih, merah, kuning atau ungu bertabur biji-bijian berwarna hitam yang dapat dimakan. Bentuk kulitnya menyerupai sisik. Jenis buah naga ada 4 yaitu, *Hylocereus undatus* (buah naga daging putih), *Hylocereus costaricensis* (buah naga daging super merah), *Hylocereus polyrhizus* (buah naga daging merah), dan *Selenicereus megalanthus* (buah naga kulit kuning daging kuning).

Menurut United States Department of Agriculture, taksonomi buah naga super merah sebagai berikut:



Gambar 2.6. Buah naga daging super merah (*Hylocereus costaricensis*)³⁴

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivicion	: Spermatophyta
Divicion	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Hamamelidae
Ordo	: Caryophyllales
Family	: Cactaceae
Genus	: <i>Hylocereus</i>
Species	: <i>Hylocereus costaricensis</i>

Kandungan nilai gizi dalam 100 g buah naga merah sebagai berikut:

Tabel 2.1. Kandungan nilai gizi dalam 100 g buah naga merah

Komposisi	Jumlah
Kadar Air (%)	96
Protein (g)	0,159-0,229
Lemak (g)	0,21-0,61
Serat Kasar (g)	0,7-0,9
Karoten (mg)	0,005-0,012
Kalsium (mg)	6,3-8,8
Fosfor (mg)	30,2-36,1
Iron (mg)	0,55-0,65
Vitamin B1 (mg)	0,028-0,043
Vitamin B2 (mg)	0,043-0,045
Vitamin B3 (mg)	0,297-0,43
Vitamin C (mg)	8-9
Thiamine (mg)	0,028-0,030
Riboflavin (mg)	0,043-0,044
Niacin (mg)	1,297-1,300
Abu (g)	0,28
Lain-lain (g)	0,54-0,68

Berbagai macam unsur ada pada kulit buah naga. Kelebihan kulit buah naga adalah kaya akan polifenol yang merupakan sumber antioksidan. Serta aktivitas antioksidan kulit buah naga lebih besar dibandingkan daging buah naga³³⁴. Salah satu senyawa polifenol yang terdapat di kulit buah naga super merah adalah antosianin. Merupakan jenis flavonoid yang larut dalam air. Antosianin dikenal sebagai antioksidan yang kuat. Antosianin dengan

kapasitas penangkal radikal bebas diketahui terkait dengan peradangan seperti interleukin, NF-kB, dan komponen matriks ekstraseluler pada jaringan kulit. Antioksidan dan jumlah total fenol kulit buah naga lebih tinggi dibandingkan dengan daging buah naga. Kandungan dari kulit buah naga sendiri terdiri dari vitamin A, vitamin C, fitoalbumin, alkaloid, terpenoid, flavonoid, tiamin, nisin, piridoksin, kobalamin, fenolik, dan karoten³⁵.

Kandungan nutrisi pada kulit buah naga adalah sebagai berikut:

Tabel 2.2. Kandungan nilai gizi dalam 100 g kulit buah naga merah

Nutrisi	Kadar
Fenol	1.049,18 mg/ 100g
Flavonoid	1.310,10 mg/ 100g
Antosianin	186,90 mg/ 100g

2.6. Hubungan Antosianin dan Photoaging

Penelitian terdahulu membuktikan bahwa antioksidan dapat memperlambat terjadinya stress oksidatif pada kulit yang diberikan paparan UVB sehingga antioksidan menjanjikan perannya sebagai agen yang mengurangi resiko penyakit kulit³⁶. Beberapa senyawa alami yang digunakan untuk menghambat terjadinya photoaging di antaranya adalah senyawa fenolik seperti flavonoid (katekin, proantosianidin, antosianin), asam fenolik (benzoat, galat, dan asam sinamat).³⁷ Senyawa fenolik dari tanaman mempunyai beberapa efek, yaitu antioksidan, antiinflamasi, antiproliferasi, antimutagenik, antimikrobial, dan antikarsinogenik. Senyawa tersebut dapat mencegah penetrasi radiasi ke dalam kulit dan mengurangi reaksi peradangan serta stress oksidatif pada fibroblast³⁸. Senyawa fenolik melalui kemampuan dari gugus

fenol untuk mengikat radikal bebas dengan memberikan atom hidrogennya melalui proses transfer elektron, sehingga fenol berubah menjadi radikal fenoksil. Radikal fenoksil yang terbentuk sebagai hasil reaksi fenol dengan radikal bebas kemudian akan menstabilkan diri melalui efek resonansi. Karena alasan ini maka derivat dari fenol merupakan donor hidrogen yang baik yang dapat menghambat reaksi yang terjadi oleh senyawa radikal. Senyawa fenol disebut juga sebagai inhibitor radikal.

Senyawa tersebut dapat mencegah penetrasi radiasi ke dalam kulit dan mengurangi reaksi peradangan serta stress oksidatif pada fibroblast³⁹. Senyawa fenolik memiliki struktur cincin aromatic dengan satu atau lebih gugus hidroksil sehingga aktivitas antioksidannya dapat bertindak sebagai reduktor dengan menyumbangkan elektron dan melindungi sel terhadap ROS⁴⁰. Antosianin adalah pigmen larut dalam air merupakan polifenol dari grup flavonoid yang banyak ditemukan pada buah dan sayuran⁴¹. Antosianin berperan sebagai scavenger ROS, yang bertanggung jawab dalam efek antioksidan adalah gugus hidroksil pada posisi 3 dari cincin C dan posisi 3', 4', 5' dari cincin B⁴². Pada penelitian *in vitro*, pemberian antosianin dapat menurunkan kadar sitokin proinflamasi dengan menurunkan aktivasi factor transkripsi Nf-kB¹⁴. Dibuktikan pula bahwa pemberian ekstrak antosianin dari kulit ubi jalar ungu pada kulit yang dipapar sinar UVB dapat memperbaiki kehilangan cairan, degradasi kolagen, hyperplasia epidermal, dan pembentukan keriput melalui regulasi jalur MAPK dan sinyal Nf-kB⁴³.

BAB III

KERANGKA TEORI, KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Teori

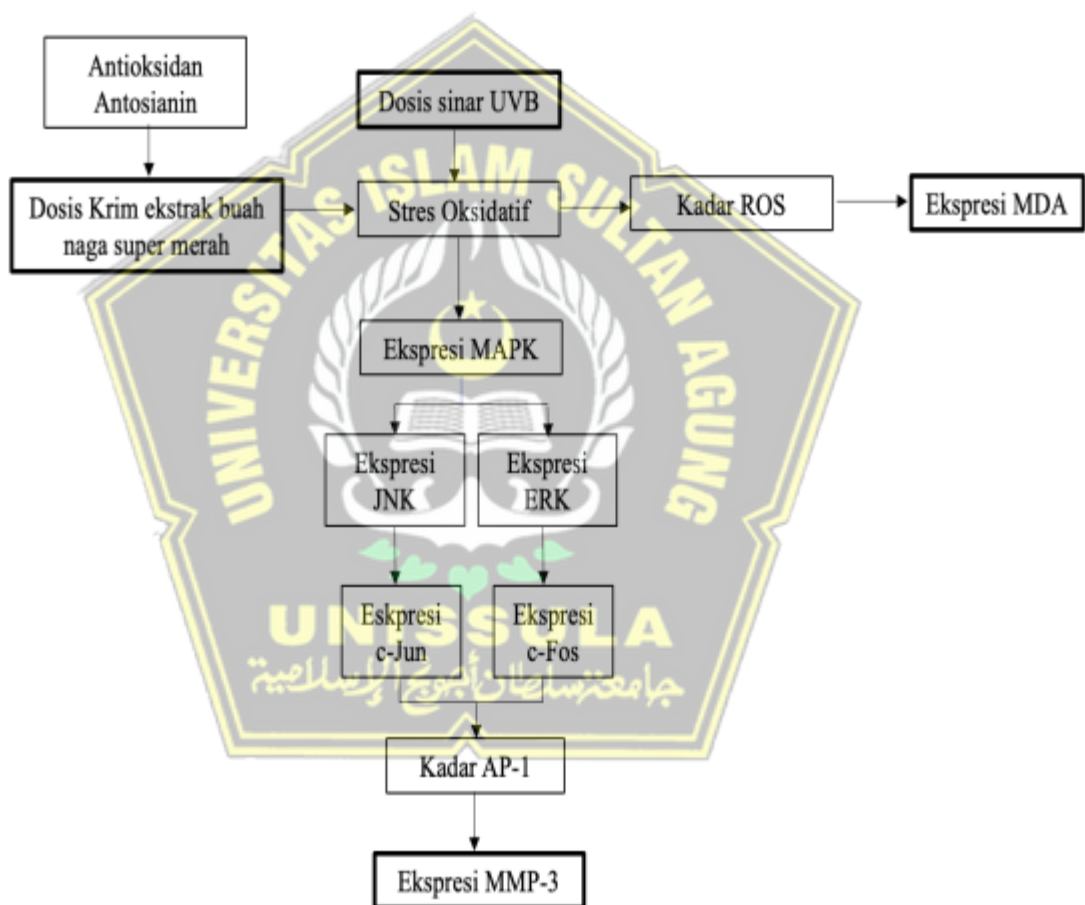
Sinar matahari yang berlebihan menimbulkan ROS yang berlebihan yang memulai kaskade transduksi sinyal²⁷. Akumulasi ROS yang disebabkan karena radiasi UVB dapat mengganggu keseimbangan antara sistem oksidatif dan antioksidan dan menginduksi stres oksidatif yang parah akibat rusaknya protein secara langsung atau tidak langsung melalui *second messenger*. Di kulit, protein dari matriks ekstraseluler berubah dengan adanya 4-HNE atau MDA. Akumulasi MDA pada kulit yang terpapar sinar matahari lebih tinggi, dibandingkan dengan kulit yang terlindung dari sinar matahari. 4-HNE dan MDA diketahui menyebabkan kerusakan kolagen³. Kolagen merupakan volume terbesar kulit dan memberikan kekuatan tarikan. Kolagen utama yang terlibat dalam arsitektur dan fisiologi kulit adalah tipe pembentuk fibril, terutama Tipe I dan Tipe III. Prokolagen tipe I merupakan precursor dari kolagen tipe I yang merupakan salah satu penyusun struktur kulit. TGF- β /Smad sangat penting untuk sintesis kolagen tipe I di dermis. TGF- β merupakan sitokin yang penting untuk meregulasi sintesis matriks ekstraseluler termasuk kolagen, elastin dan fibronectin. Adanya peningkatan ROS secara molekuler mengaktifkan jalur MAPK. MAPK merupakan keluarga enzim yang terdiri dari tiga jenis yaitu ERK, c-Jun, c-Fos, dan p38 kinase. Aktivasi jalur MAPK melalui reseptor tirosin kinase mengaktifasi ekspresi c-Jun dan c-Fos akan membentuk AP-1 yang berperan penting dalam regulasi transkripsi

MMP-3. Selain itu AP-1 juga berperan dalam menghambat sinyal TGF- β yang merupakan regulator mayor produksi prokolagen tipe 1 kulit. Terganggunya jalur TGF- β mengarahkan pada penurunan sintesis kolagen³³.

TGF- β memiliki 2 tipe reseptor, yaitu reseptor TGF- β tipe I (T β RI) dan reseptor TGF- β tipe 2 (T β RII). TGF- β Bersama dengan Smad akan membentuk suatu pathway yang mengatur regulasi kolagen tipe I. Pertama TGF- β akan menempel pada T β RII yang menghasilkan fosforilasi reseptor yang ditransduksi T β RI, yang dapat mengaktifkan Smad2 dan Smad3. Setelah aktifasi Smad2 dan Smad3 bersama Smad4 akan membentuk suatu kompleks yang akan dibawa ke nucleus dan mengikat promotor transkripsi prokolagen untuk mensintesis kolagen dan proliferasi dari fibroblas.⁶ Namun karena adanya ROS yang disebabkan oleh radiasi UVB, penempelan TGF- β pada reseptor T β RII menjadi tidak stabil dan melemah.³¹ Selain itu dengan adanya ROS ekspresi protein Smad7 akan meningkat, kemudian menempel pada reseptor T β RI dan mengganggu fosforilasi Smad2 dan Smad3. Akibatnya sinyal transduksi sintesis prokolagen tipe I akan terhambat⁶. Paparan radiasi sinar UV juga mengaktifasi jalur NF- κ B yang kemudian mengakibatkan up regulasi dari MMP-3³².

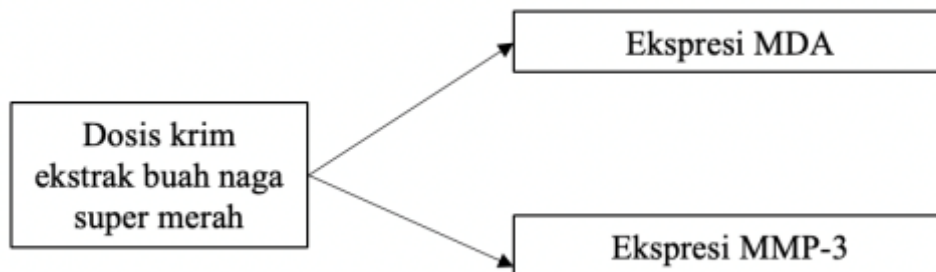
Kulit buah naga kaya akan polifenol yang merupakan sumber antioksidan. Serta aktivitas antioksidan kulit buah naga lebih besar dibandingkan daging buah naga⁴⁴. Salah satu senyawa polifenol yang terdapat di kulit buah naga super merah adalah antosianin. Antosianin dikenal sebagai antioksidan yang kuat. Antosianin berperan sebagai scavenger ROS, yang bertanggung jawab dalam efek antioksidan adalah gugus hidroksil pada posisi

3 dari cincin C dan posisi 3', 4', 5' dari cincin B⁴². Scavenger ROS memiliki potensi untuk melindungi sel dari penuaan dini yang disebabkan oleh radiasi UVB. Pada penelitian *in vitro*, pemberian antosianin dapat menurunkan kadar sitokin proinflamasi dengan menurunkan aktivasi factor transkripsi NF- κ B¹⁴. Pada penelitian *in vitro*, pemberian antosianin dapat menurunkan kadar sitokin proinflamasi dengan menurunkan aktivasi factor transkripsi NF- κ B¹⁴.



Gambar 3.1. Kerangka teori

3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka konsep

3.3. Hipotesis Penelitian

Dari kerangka konsep hipotesis yang diajukan adalah:

1. Krim ekstrak buah naga super merah secara topikal dosis 10% berpengaruh terhadap penurunan ekspresi MDA pada kulit tikus jantan galur wistar dengan penurunan kolagen dibandingkan dengan kontrol.
2. Krim ekstrak buah naga super merah secara topikal dosis 10% berpengaruh terhadap penurunan ekspresi Matriks Metalloproteinase-3 pada kulit tikus jantan galur wistar dengan penurunan kolagen dibandingkan dengan kontrol.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *randomized post-test only control group*, dengan menggunakan hewan coba tikus jantan galur wistar sebagai objek penelitian dengan bobot 200-250 gr.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1. Populasi/Subjek Penelitian

Populasi pada penelitian ini tikus jantan galur wistar yang didapatkan dari Laboratorium SCCR Fakultas Kedokteran Unissula. Tikus jantan galur wistar dipelihara di kandang hewan dengan ventilasi yang cukup dan diadaptasikan terlebih dahulu selama 1 minggu, diberi makanan secukupnya kemudian dilakukan randomisasi.

Kriteria inklusi:

- a. Tikus jantan galur wistar yang mengalami pengurangan kolagen pada kulit akibat paparan UVB
- b. Berat badan 200-250 gram
- c. Tikus dalam keadaan sehat, memiliki aktivitas dan tingkah laku sehat
- d. Tidak memiliki kelainan anatomis

Kriteria eksklusi:

- a. Tikus jantan galur wistar yang memiliki kelainan anatomis
- b. Tikus jantan galur wistar yang sudah pernah digunakan untuk penelitian sebelumnya.

Kriteria drop out: apabila tikus mengalami kematian atau infeksi pada saat penelitian.

4.2.2. Sampel Penelitian

Penentuan besar sampel mengikuti rumus penentuan replikasi yang dilakukan oleh Federer yaitu dihitung berdasarkan rumus:

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

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

$$3n - 3 \geq 15$$

$$n \geq 6$$

Keterangan:

t : banyaknya taraf perlakuan

n : banyaknya sampel setiap perlakuan

Dalam penelitian ini $t=4$ perlakuan, sehingga $(4-1)(n-1) \geq 15$, dengan memakai rumus tersebut akhirnya diperoleh jumlah $n=6$. Jadi, total sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah 24 ekor tikus.

4.2.3 Teknik Sampling

Tikus yang akan digunakan dalam penelitian harus masuk dalam kriteria inklusi terlebih dahulu. Sebelum dilakukan penelitian, diadaptasikan terlebih dahulu selama 1 minggu. Setelah diadaptasikan,

24 ekor tikus diambil secara random untuk dibagikan ke dalam 4 kelompok perlakuan.

4.3 Variabel dan Definisi Operasional

4.3.1. Variabel

- a. Variabel bebas : Krim ekstrak kulit buah naga super merah
- b. Variabel terikat : Ekspresi MDA, Ekspresi MMP-3
- c. Variabel prakondisi : Sinar UVB

4.3.2. Definisi Operasional Variabel

1. Dosis Krim Ekstrak Kulit Buah Naga

Krim ekstrak kulit buah naga super merah adalah terbuat dari ekstrak kulit buah naga super merah melalui maserasi yang dicampur dengan formula krim dasar. Jenis krim yang dibuat yaitu krim m/a. Bahan dasar krim adalah bahan untuk pembuatan krim yang tidak mengandung ekstrak kulit buah naga super merah. Krim ekstrak kulit buah naga super merah dengan 10% dibuat di Laboratorium SCCR Fakultas Kedokteran Unissula. Krim tersebut dioleskan pada punggung tikus yang telah dicukur dengan ukuran 2x3 cm. Krim ekstrak kulit buah naga super merah diaplikasikan setelah selesai penyinaran UVB. Skala ratio.

2. Ekspresi Malondialdehyda (MDA)

Malondialdehyda (MDA) adalah senyawa aldehyd yang terbentuk oleh peroksidasi lipid dalam tubuh dan digunakan sebagai indikator adanya reaksi oksidasi. Peroksidasi lipid dihasilkan oleh asam lemak ganda tak jenuh (PUFA) dan stress

oksidasi pada membran plasma. Ekspresi Malondialdehid (MDA) diukur dengan cara pengambilan jaringan kulit tikus yang telah diberi perlakuan. Pengukuran ekspresi MDA dilakukan pada hari ke-15 setelah pemberian perlakuan menggunakan metode uji TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substance) dengan satuan nmol /gram. TBA-MDA akan dideteksi dengan spektrofotometri dengan panjang gelombang 532-535 nm. Pengukuran dilakukan di Laboratorium IBL Fakultas Kedokteran Unissula. Skala data numerik.

3. Ekspresi MMP-3

MMP-3 adalah enzim yang berperan dalam degradasi kolagen yang meningkat akibat tingginya kadar ROS pada radiasi UVB. Sampel jaringan kulit di area penyinaran diambil dan dilakukan ekstraksi RNA untuk di analisis dengan metode *reverse transcriptase-polymerase chain reaction* (RT-PCR). Hasilnya dinyatakan dalam persen (%). Pengukuran dilakukan di Laboratorium IBL Fakultas Kedokteran Unissula. Skala data ratio.

4. Sinar UVB

Sinar UVB adalah sinar yang berasal dari lampu UVB *Narrowband* TL-F72-100W/12 dengan besar dosis radiasi yang dapat diukur dengan UV meter. UV light (broadband dengan peak emission 302 nm) dengan minimal erythema dose (MED) 160 mJ/cm² yang dipapar sekitar 15 menit/hari selama 5 hari.^{45 46}Skala data ratio.

4.4. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan dasar krim m/a, krim anti wrinkle, krim ekstrak kulit buah naga super merah 10%, lampu UVB, kit MDA, kit MMP-3 antibody MMP-3.

4.5 Peralatan Penelitian

4.5.1. Alat untuk membuat ekstrak kulit buah naga super merah

Peralatan yang digunakan untuk membuat ekstrak yaitu tempat penyimpanan steril, sendok kaca steril, juicer, dan vaccum dryer

4.5.2. Alat untuk pemeliharaan tikus

Peralatan untuk pemeliharaan tikus terdiri dari kandang tikus, tempat fiksasi, timbangan analitik, jarum 26, spuit 1 cc, alat cukur, sarung tangan.

4.5.3 Alat untuk pembuatan preparate

Alat yang digunakan untuk pembuatan preparate yaitu skapel, pinset, talenan, saringan, tissue casset, mesin processor otomatis, mesin vaccum, mesin bloking, freezer, mesin microtome, objek glass, kaca penutup, waterbath 46°C.

4.6. Cara Penelitian

4.6.1. Perolehan Ethical Clearence

Ethical clearence penelitian diajukan di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

4.6.2. Persiapan Sebelum Perlakuan

- a. Adaptasikan 24 ekor tikus wistar dengan lingkungan selama 1 minggu
- b. Dilakukan pengambilan sampel secara acak pada ke 24 tikus wistar yang masuk kriteria inklusi
- c. Dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok Sehat, kontrol negative, kontrol positif, dan perlakuan
- d. Letakkan tikus di kandang kawat yang dilengkapi dengan makanan dan minuman secukupnya. Setiap kandang berisi 6 tikus. Suhu ruangan dipertahankan pada suhu 28-32°C
- e. Lakukan pencukuran punggung tikus sebesar 2x3 cm untuk area penyinaran UVB

4.6.3. Pembuatan Krim Ekstrak Kulit Buah Naga Super Merah

- a. Ambil kulit buah naga super merah kemudian dipotong kecil-kecil berukuran ± 1 cm.
- b. Pembuatan ekstrak etanol dilakukan maserasi dengan pelarut etanol 96%. Sebanyak 500 g kulit buah naga merah yang sudah dipotong-potong dimasukkan ke dalam wadah kaca, tambahkan etanol 96% sebanyak 3,75 L, tutup, biarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sering diaduk kemudian diserkai dengan kain flannel hingga diperoleh larutan ekstrak cair. Ampas saringan di maserasi kembali dengan larutan etanol 1,25 L. kemudian disaring kembali dimana hasil saringan digabungkan dengan hasil saringan pertama dibiarkan selama 2 hari. Hasil yang diperoleh dipekatkan dengan alat penguap dan dilanjutkan proses penguapan di atas penangas air sampai diperoleh ekstrak kental.

c. Formula krim yang akan dibuat adalah:

R/Asam stearate	12 g
Setil alcohol	0,5 g
Trietanolamin	1 g
Metil parabean	0,1 g
Natrium Metabisulfit	0,1 g
Ekst. Kulit Buah Naga Super Merah	x %
Akuades ad	100 g

Keterangan :

X % : Konsentrasi ekstrak kulit buah naga super merah (10%)

Formula dasar krim yang dibuat, yaitu:

Tabel 4.1. Formula dasar krim

No	Komposisi (g)	Jumlah untuk 500 g
1	Asam stearate	60
2	Setil alcohol	2,5
3	Trietanolamin	5
4	Metil parabean	0,5
5	Natrium Metabisulfit	0,5
6	Akuades ad	500

Cara pembuatan: semua bahan ditimbang, pisahkan fase air dan fase minyak. Asam stearate dan setil alcohol dilebur di tas penangas air (fase minyak) pada suhu 70-75°C. metil parabean, trietanolamin, dan natrium metabisulfite dilarutkan dalam akuades yang telah dipanaskan (fase air). Kemudian, fase minyak dimasukkan ke dalam lumping porselin panas, ditambahkan fase air dan diaduk secara konstan sehingga diperoleh dasar krim yang homogen.

- d. Ekstrak kulit buah naga super merah dimasukkan dalam lumping porselin digerus halus, lalu ditambahkan dasar krim sedikit demi sedikit, kemudian digerus hingga homogen, setelah itu dimasukkan ke dalam wadah. Formula krim yang dibuat, yaitu:

Tabel 4.2. Formula krim yang dibuat

Bahan	Konsentrasi	
	F0 (Blanko)	F2 (10%)
Ekstrak kulit buah naga super merah (g)	-	10
Dasar krim (g)	100	90

4.6.4. Cara Pemberian Krim Ekstrak Kulit Buah Naga Super Merah dan Paparan sinar UVB

- a. Letakkan tikus dalam wadah yang memiliki tutup sehingga tikus tidak membalikkan badan saat diberikan paparan sinar UVB.
- b. Bahan krim anti wrinkle, bahan dasar krim dan krim ekstrak kulit buah naga super merah mulai diaplikasikan setiap hari selama 14 hari.
- c. Perlakuan masing-masing kelompok sebagai berikut:
 1. K = 6 ekor tikus yang sudah dicukur sebelumnya, diberikan olesan krim dasar.
 2. P1 = 6 ekor tikus yang sudah dicukur sebelumnya diberikan olesan krim anti wrinkle.
 3. P2 = 6 ekor tikus yang sudah dicukur sebelumnya diberikan olesan krim ekstrak kulit buah naga super merah 10%.

4.6.5. Terminasi Tikus

Untuk mengambil sampel kulit pada tikus dilakukan biopsi. Sebelum dibiopsi, tikus di euthanasia dengan xylazine 20 mg/kgBB IM dan ketamin 60 mg/KgBB IM. Setelah tikus benar-benar mati, pengambilan sampel biopsy dapat dilakukan.

4.6.6. Sediaan Biopsi Kulit

Setelah tikus benar-benar mati, tandai daerah lesi kulit aktif dengan marker. Bersihkan daerah lesi dan kulit sekitar dengan larutan antiseptik, kemudian tutup dengan duk steril. Lakukan eksisi elips diameter 5 mm dan kedalaman hingga subkutis dan masukkan ke dalam larutan fiksasi buffer 10% selama 24 jam kemudian trimming jaringan yang akan diambil. Untuk pemeriksaan ekspresi MDA, jaringan kulit disimpan diatas es. Untuk pemeriksaan jumlah neutrofil dan fibroblas, rendam jaringan tersebut dengan alcohol bertingkat secara berurutan rendam di kadar 50%, 70%, 90% dan 100% masing-masing 2 kali selama 2 jam. Kemudian masukkan ke clearing agent (xylene) selama 24 jam sampai transparan. Lakukan infiltrasi sebanyak 2 kali masing-masing 1 jam dengan paraffin murni (histoplast) cair kemudian jaringan ditanam dalam paraffin cair dan biarkan membentuk blok selama 1 hari agar mudah diiris dengan mikrotom. Pemotongan dengan mikrotom ketebalan 4 μ M diambil irisan ke 5, 10, dan 15 lalu tempelkan pada objek glass dan inkubasi selama 2 jam pada suhu 60°C.

4.6.7. Pemeriksaan Ekspresi MDA

1. Selama penanganan bahan disimpan di atas es. Sebelum menghasilkan lisat, jaringan terlebih dahulu dipotong menjadi ~1mm kubus dengan menggunakan silet di atas pelat kaca yang diletakkan di atas es.
2. Kubus kecil kemudian dipindahkan ke homogenizer tembikar genggam dengan tiga ml buffer RIPA sedingin es per gram jaringan.
3. Jaringan kulit diinkubasi di RIPA selama 20 inci di atas es sebelum mulai dihomogenisasi.
4. Homogenkan dengan mendorong piston perlahan ke dalam campuran dengan terus memutar pergelangan tangan sehingga memutar piston di sekitar kapaknya. Pastikan semua potongan jaringan meluncur di antara piston dan dinding kaca sambil dihomogenkan.
5. Setelah piston mencapai dasar, balikkan penanganan. Biarkan jaringan terendam dalam es selama proses. Ulangi siklus sampai jaringan mencair. Bagi jaringan cair di atas tabung 1,5ml dan sentrifus pada 13.000rpm selama 3 menit pada suhu 4C
6. Pindahkan supernatan bening dalam tabung baru yang diberi label dengan jelas. Keluarkan 20ul untuk penentuan protein. Penentuan protein dilakukan menggunakan Kit Penentuan Protein BioRad
7. Sesuaikan lisat menjadi 5mg/ml dengan menambahkan buffer RIPA es dingin. Simpan dalam nitrogen cair
8. Kepekatan warna dibaca menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm.

4.6.8. Ekstraksi mRNA

Ambil sampel kulit sebanyak 100 mg kemudian dipotong-potong menjadi halus, masukkan ke dalam tabung dan campur dengan RNA Iso Plus sebanyak 50 mL dan di inkubasi pada suhu ruang selama 5 menit. Tambahkan 20 mL kloroform kemudian divortek hingga berubah menjadi putih susu. Inkubasi pada suhu ruang selama 2-3 menit kemudian sentrifugasi Kembali selama 15 menit dengan kecepatan 1500 rpm pada suhu 4°C sehingga terbentuk 3 lapisan. Lapisan paling atas berupa RNA dipindahkan ke tabung baru, diukur volumenya kemudian tambahkan isopropanolol sebanyak volume RNA yang didapat. Goyangkan tabung tersebut hingga terbentuk benang putih, selanjutnya sentrifugasi selama 10 menit pada suhu 4°C dengan kecepatan 15.000 rpm. Buang supernatan dan sisakan sedimen. Sedimen dikeringkan lalu tambahkan dengan 100 mL etanol 70% dalam larutan DEPC (*Diethyl pyrocarbonat*), bolak balik tabung kemudian sentrifugasi selama 5 menit pada suhu 4°C dengan kecepatan 15.000 rpm. Buang Kembali supernatan dan tambahkan kembali DEPC sebanyak 30-50 µm, inkubasi selama 10 menit pada suhu 55°C. simpan pada suhu -80°C, RNA dikuantifikasi dengan nanodrop dan hasilnya dihitung menjadi 3000ng.

Sintesis cDNA dibuat dengan mencampurkan antara campuran A dan campuran B yang akan diinkubasi *pada suhu 25°C selama 5 menit, 42°C selama 50 menit dan 85°C selama 5 menit.*

Untuk campuran A terdiri dari sampel RNA yang sudah dihitung, 1 μ l OligoDT serta PCR water sampai volume menjadi 10 μ l dan diinkubasi pada suhu 70°C selama 5 menit. Sedangkan campuran B terdiri dari *5X buffer* 4 μ l, *DEPC-Treated H₂O* 5 μ l, *ReverTraAce* 1 μ l.

4.6.9 Analisis Ekspresi PCR

Ekspresi mRNA dari MMP-3 dianalisis menggunakan *Reverse Transcription-Polymeraseim Chain Reaction (RT-PCR)*. Sebelumnya perlu dilakukan pembuatan master mix RT-PCR yang terdiri dari 3 μ l cDNA sampel, 12,5 μ l Taq master mix (*dNTPs*, *Taq DNA polymerase*, *reaction buffer and MgCl₂*), 0,6 μ l primer spesifik pada masing-masing gen target, dan 8,3 μ l *Nuclease Free Water*.

4.6.10 Pengamatan Hasil

1. Perhitungan ekspresi MDA dengan menggunakan metode TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substance) yang diukur dengan spektrofotometer.
2. Gen MMP-3 diamplifikasi dengan menggunakan Teknik PCR-RFLP, menggunakan PCR 2x PCR Master mix solution (iNtRON, nomer katalog 25027) di dalam tabung vial 0,2 mL dengan volume total 50uL untuk 1 sampel. PCR dilakukan menggunakan siklus termal DNA: Terapan Biosistem Veriti.

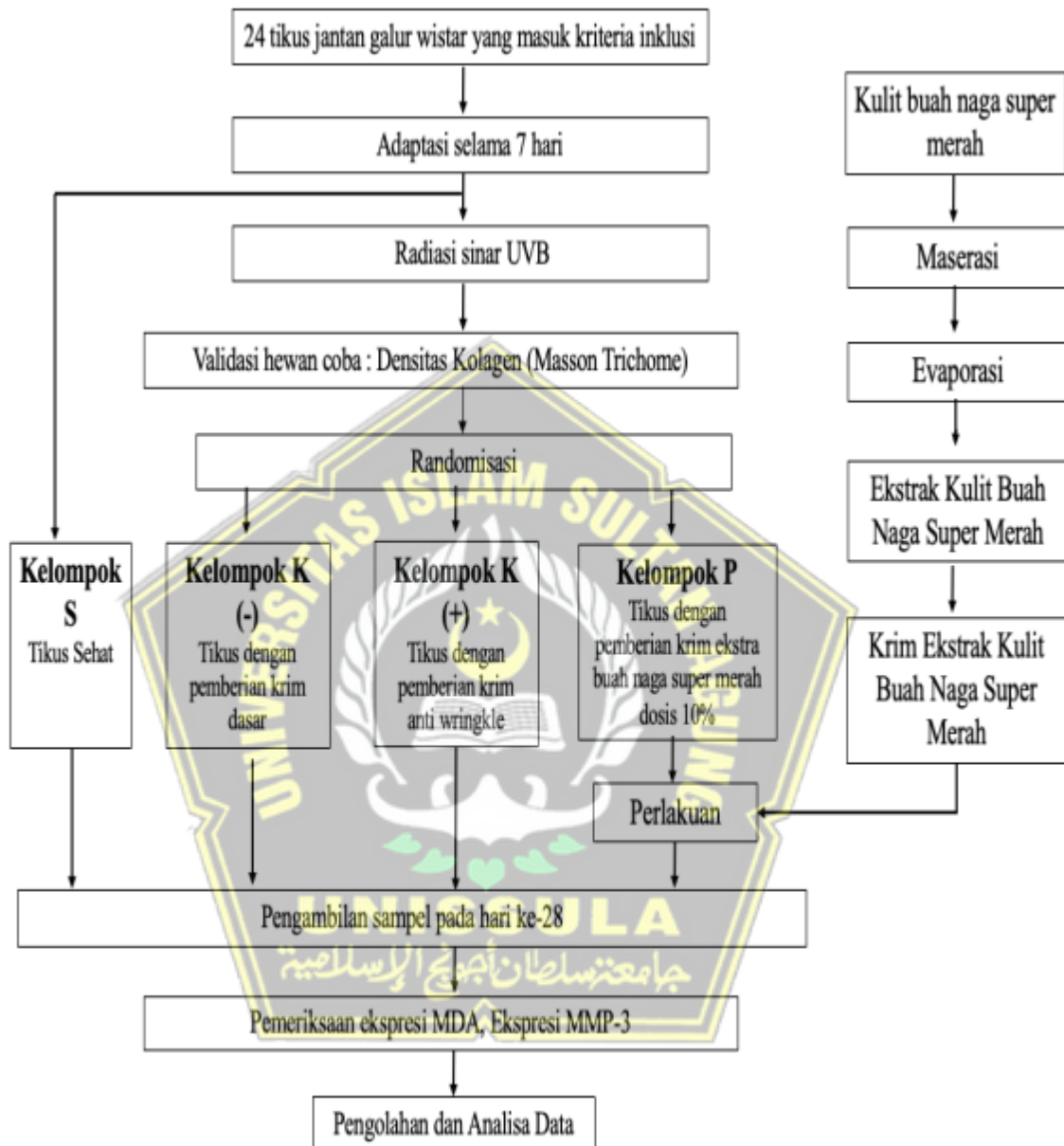
Primer Forward untuk MMP-3: 5'-

TACCTGAACCCGTGTTGCTCTC-3. Primer Reverse untuk

MMP-3: 5'-GTTGCTGAGGTATCGCCAGGAA-3'



4.7. Alur Penelitian



Gambar 4.1. Alur Penelitian

4.8. Analisis Data

Dalam melakukan analisis data ekspresi MDA dan ekspresi MMP-3 pada kulit tikus putih jantan galur wistar antar kelompok dilakukan langkah-langkah statistic sebagai berikut:

1. Menggunakan program SPSS
2. Penentuan normalitas data ekspresi MDA dan ekspresi MMP-3 pada masing-masing kelompok dianalisis dengan Uji Shapiro-Wilk
3. Homogenitas varian dianalisis dengan Levene's test
4. Analisis komparasi MDA dan ekspresi MMP-3 dilakukan dengan uji One-Way Anova jika data terdistribusi normal dan homogen, kemudian dilanjutkan dengan Post-Hoc dengan uji LSD. Namun, bila distribusi data normal dan tidak homogen maka data dianalisis menggunakan uji non parametrik Kruskal Wallis. Jika $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan terdapat perbedaan antar 2 kelompok. Sedangkan, untuk melihat seberapa kuat perbedaan antara keduanya, data dianalisis menggunakan Mann Whitney. Data disajikan dalam bentuk tabel.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental yang dilakukan selama bulan Februari-Maret 2023 di Laboratorium *Stem Cell and Cancer Research* (SCCR), Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung, Semarang. Subjek penelitian ini adalah tikus jantan galur wistar dengan berat 200-250 gram dan berumur 2-3 bulan yang di radiasi menggunakan UVB dengan dosis 160 mJ/cm² yang dipapar sekitar 15 menit/hari selama 5 hari. Selama penelitian berlangsung, tidak ada hewan coba yang mengalami *dropout*. Penelitian ini terdiri dari 4 kelompok yaitu kelompok tikus sehat yang tidak dilakukan penyinaran UVB maupun intervensi, kelompok kontrol negatif yaitu kelompok tikus yang diberi paparan paparan UVB selama 5 hari dan diberikan perlakuan olesan *cream base* selama 14 hari, kelompok kontrol positif adalah kelompok yang diberi paparan paparan UVB selama 5 hari dan diberikan perlakuan olesan *cream anti wrinkle* selama 14 hari, dan kelompok perlakuan adalah kelompok yang diberi paparan paparan UVB selama 5 hari dan diberikan perlakuan olesan *cream* ekstrak kulit buah naga super merah 10% selama 14 hari.

5.1.1. Determinasi dan Ekstraksi Kulit Buah Naga Super Merah

Kulit buah naga super merah (*Hylocereus costaricensis*) yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari perkebunan di Kota

Semarang. Determinasi bahan dilakukan di UPT Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro Semarang.

Tabel 5.1. Determinasi Ekstrak Kulit Buah Naga Super Merah

Nama Sampel	Buah Naga Super Merah
Sampel	Tanaman Lengkap dan Simplisia
Kingdom	Plantae
Divisio	Magnoliophyta
Classis	Magnoliopsida (Dicotyledonae)
Ordo	Cactales
Familia	Cactaceae
Genus	<i>Hylocereus</i>
Species	<i>Hylocereus costaricensis</i> (F.A.C Weber) Britton & Ros
Nama Lokal	Buah naga dengan warna yang sangat merah

Kulit buah naga super merah dikeringkan dan dimaserasi dalam etanol 96% selama 3 hari, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Residu dilakukan proses remaserasi dengan sisa pelarut etanol selama 2 hari untuk mengekstrak zat aktif pada kulit buah naga super merah. Filtrat yang didapat digabungkan kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan *waterbath* sehingga didapatkan ekstrak kental kulit buah naga super merah. Kandungan zat aktif pada ekstrak kulit buah naga super merah kemudian dianalisis menggunakan metode Uji Kualitatif Skrining Fitokimia dan Uji Kadar Flavonoid Total.

5.1.2. Uji Kualitatif Skrining Fitokimia dan Uji Kadar Flavonoid Total

Uji kualitatif merupakan metode penapisan fitokimia yang dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan suatu pereaksi warna. Hal – hal yang berperan penting pada skrining fitokimia antara lain pemilihan pelarut dan metode ekstraksi. Dalam

hasil skrining senyawa fitokimia ekstrak kulit buah naga super merah (*Hylocereus costaricensis*) dapat dinilai kandungan senyawa metabolit sekunder yang dilihat dengan visualisasi warna yang dihasilkan masing – masing senyawa. Uji skrining fitokimia terdiri dari uji flavonoid, uji alkaloid, uji saponin, uji tanin, uji steroid, dan uji triterpenoid, dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2. Profil Fitokimia ekstrak kulit buah naga

Parameter Uji	Hasil Uji Kualitatif	Metode
Alkaloid	+	Wagner
Saponin	+	Forth
Tannin	+	FeCl ₃ 1%
Flavonoid	+	Willstatter
Steroid	+	Lieberman Burchard
Triterpenoid	+	Lieberman Burchard

Pada uji kualitatif flavonoid dengan pereaksi warna, jika setelah ditambahkan serbuk magnesium dan HCL 2N terbentuk warna merah hingga merah muda maka menunjukkan adanya flavonoid. Uji flavonoid secara kuantitatif dengan menganalisis kandungan flavonoid total pada ekstrak etil asetat dan etanol kulit buah naga super merah.

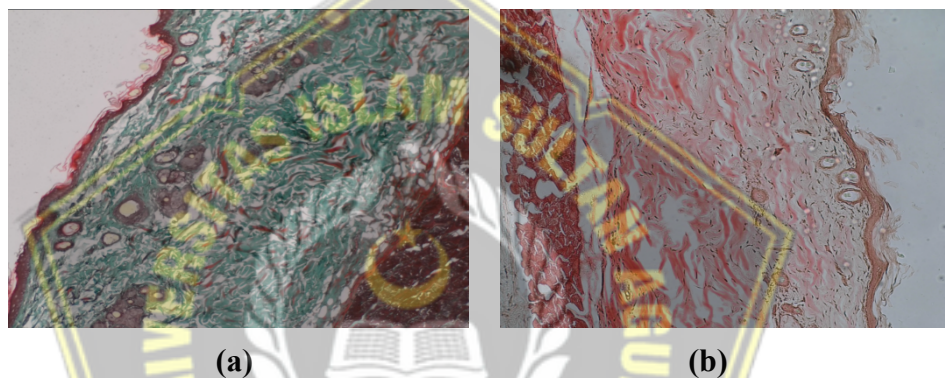
Hasil kadar rata – rata flavonoid total adalah $53,2839131 \pm 0,66$.

Tabel 5.3. Hasil uji Kadar Flavonoid Total

Extract Concentration	TFC
1000 ppm	57,6304348
1000 ppm	52,1956522
1000 ppm	50,0217391

5.1.3. Uji Validasi *Animal Model Collagen Loss*

Data penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan kolagen pada tikus setelah dilakukan radiasi dengan menggunakan UVB dengan dosis $160\text{mJ}/\text{cm}^2$ selama 5 hari yang dibandingkan dengan tikus sehat kemudian dilakukan terminasi dan biopsi kulit yang selanjutnya dilakukan pengecatan dengan menggunakan Masson Trichome sebagaimana disajikan dalam gambar dibawah ini.



Gambar 5.1. Uji Validasi dengan menggunakan pengecatan Masson Trichome Pada Tikus. Gambar (a) kulit tikus tanpa diberikan radiasi UVB. Gambar (b) menunjukkan kulit tikus dengan penurunan kolagen

5.1.4. Hasil Ekspresi MDA pada tikus jantan galur wistar setelah dilakukan pemberian krim ekstrak kulit buah naga

Hasil penelitian tentang pengaruh krim ekstrak kulit buah naga super merah *Hylocereus costaricensis* terhadap ekspresi MDA dan ekspresi MMP-3 telah dilakukan di Laboratorium SCCR Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Hasil penelitian tertera pada tabel 5.1.

Tabel 5.4. Hasil analisis rerata ekspresi MDA

Variabel	Kelompok			<i>pvalue</i>
	Sehat n=6 Mean±SD	Kontrol Negatif n=6 Mean±SD	Kontrol Positif n=6 Mean±SD	
MDA	0,416 ± 0,11	0,633 ± 0,33	0,55 ± 0,24	0,516 ± 0,19
<i>Saphiro wilk</i>	0,421	0,30	0,221	0,433
<i>Levene test</i>				0,513

Data variabel ekspresi MDA setelah dilakukan analisis normalitas sebaran/distribusi data menggunakan uji *Shapiro wilk* menunjukkan nilai $p > 0,05$, dan uji homogenitas varian data menggunakan uji *levene test* menghasilkan nilai $p > 0,05$. Data variabel ekspresi MDA dapat disimpulkan data berdistribusi normal dan homogen. Dilanjutkan analisis data menggunakan uji parametrik *one way anova*. Hasil uji *one way anova* menunjukkan nilai $p = 0,472$ ($p > 0,05$), sehingga dapat disimpulkan tidak terdapat perbedaan bermakna antar dua kelompok perlakuan.

Selanjutnya dilakukan Uji Post Hoc LSD untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Dari semua hasil uji, diketahui nilai $p > 0,05$, sehingga dapat diinterpretasikan tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok.

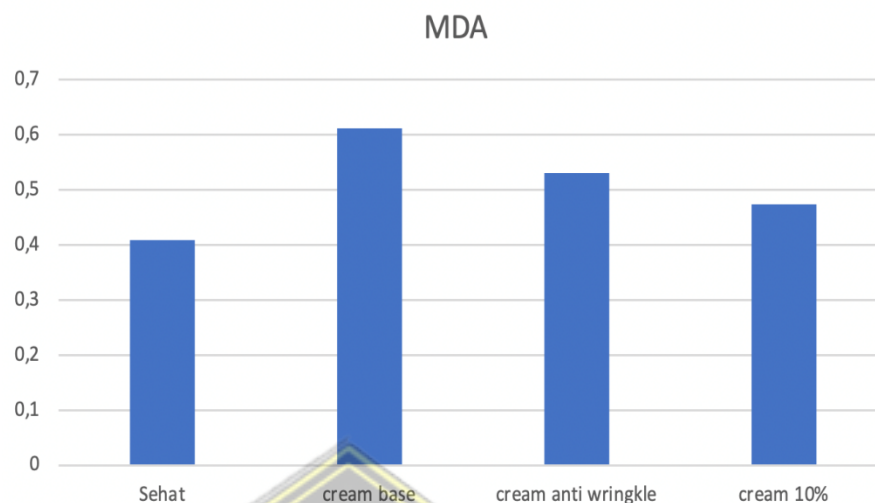
Tabel 5.5. Uji *Post-Hoc* LSD ekspresi MDA antar kelompok perlakuan

Kelompok	Kelompok Perbandingan	Signifikansi
Sham	Kontrol Negatif	0,126
	Kontrol Positif	0,338
	Perlakuan	0,470
Kontrol Negatif	Kontrol Positif	0,546
	Perlakuan	0,400
Kontrol Positif	Perlakuan	0,808

Uji Post Hoc:

*means difference significant $P < 0,05$

^{ns}means not difference significant $P > 0,05$



Gambar 5. 2. Ekspresi MDA pada kelompok; Kontrol sehat: tikus yang dibiarkan dalam keadaan sehat tanpa perlakuan, Kontrol negatif : tikus dengan perlakuan cream base, Kontrol Positif : tikus dengan perlakuan cream anti wrinkle, Perlakuan: tikus dengan perlakuan cream ekstrak kulit buah naga 10%

5.2. Hasil Ekspresi MMP-3 pada tikus jantan galur wistar setelah dilakukan pemberian krim ekstrak kulit buah naga

Tabel 5.6. Hasil analisis rerata ekspresi MMP-3

Variabel	Kelompok				pvalue
	Sehat n=6 Mean±SD	Kontrol Negatif n=6 Mean±SD	Kontrol Positif n=6 Mean±SD	Perlakuan n=6 Mean±SD	
MMP-3	1 ± 0	25,57 ± 8,95	1,61 ± 0,94	1,49 ± 0,93	
<i>Saphiro wilk</i>	-	0,498	0,087	0,371	
<i>Levene test</i>					0,000

Data variabel ekspresi MMP-3 setelah dilakukan analisis normalitas sebaran/distribusi data menggunakan uji *Shapiro wilk* menunjukkan nilai $p > 0,05$, dan uji homogenitas varian data menggunakan uji *levene test* menghasilkan nilai $p < 0,05$. Data variabel ekspresi MDA dapat disimpulkan data berdistribusi normal dan tidak homogen. Dilanjutkan analisis data

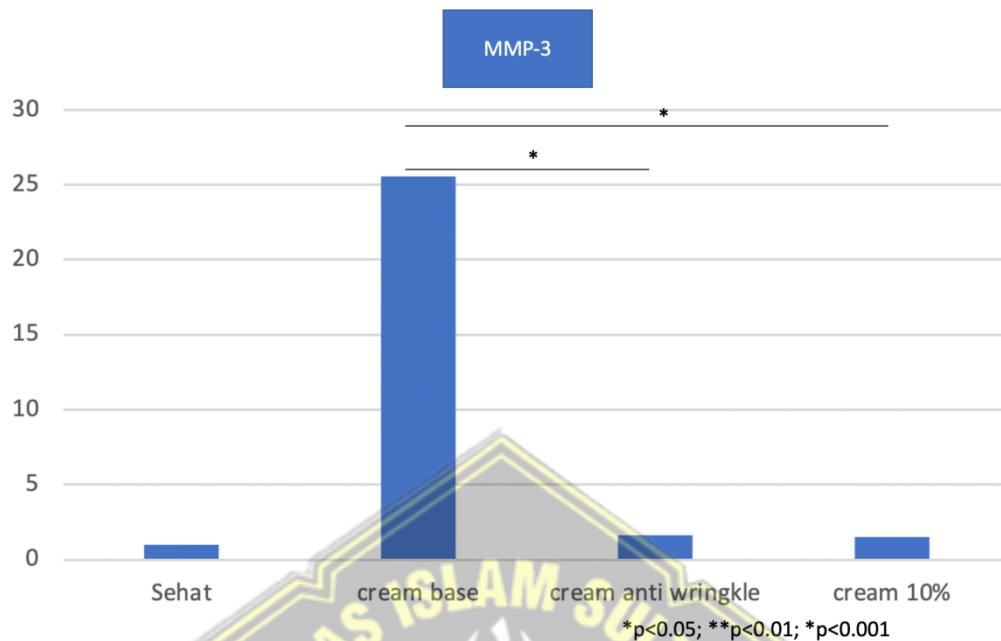
menggunakan uji parametrik *one way anova*. Hasil uji *one way anova* menunjukkan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$), sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan bermakna antar dua kelompok perlakuan.

Selanjutnya dilakukan Uji Post Hoc Tukey untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Dari semua hasil uji, diketahui terdapat nilai $p=0,000$ ($p<0,05$) antar kelompok sham dengan kontrol negatif, antar kontrol negatif dengan kontrol positif, serta antar kontrol negatif dengan perlakuan, sehingga dapat diinterpretasikan bahwa terdapat perbedaan ekspresi MMP-3 yang signifikan pada kelompok tersebut.

Tabel 5.7. Uji Post-Hoc Tukey ekspresi MMP-3 antar kelompok perlakuan

Kelompok	Kelompok Perbandingan	Signifikansi
Sham	Kontrol Negatif	0,000
	Kontrol Positif	0,995
	Perlakuan	0,998
Kontrol Negatif	Kontrol Positif	0,000
	Perlakuan	0,000
Kontrol Positif	Perlakuan	1,000

Uji Post Hoc: *means difference significant $P<0,05$
^{ns}means not difference significant $P>0,05$



Gambar 5.3. Ekspresi MMP-3 pada kelompok; Kontrol sehat: tikus yang dibiarkan dalam keadaan sehat tanpa perlakuan, Kontrol negatif : tikus dengan perlakuan cream base, Kontrol Positif : tikus dengan perlakuan cream anti wrinkle, Perlakuan: tikus dengan perlakuan cream ekstrak kulit buah naga 10%

5.3. Pembahasan

Stress oksidatif yang ditimbulkan oleh radiasi UVB dapat menyebabkan *photoaging*. *Photoaging* yang menyebabkan radikal bebas dapat mengurangi perlindungan aktivitas enzim antioksidan, sehingga meningkatkan stress oksidatif. Selama stress oksidatif, ROS dan MDA terus diproduksi.⁴⁶ Stress oksidatif akan memulai kaskade jalur persinyalan MPAK menyebabkan teraktivasinya (AP-1) dan meningkatkan Ekspresi MMP-3 pada kulit.⁴⁶ Beberapa penelitian telah mengkonfirmasi bahwa antioksidan sangat efektif untuk mencegah terjadinya *photoaging*. Kulit buah naga super merah memiliki senyawa aktif, salah satunya antosianin yang berperan sebagai antioksidan dan

anti inflamasi, sehingga mampu berperan dalam menurunkan ekspresi MDA dan MMP-3 pada kulit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian krim ekstrak kulit buah naga super merah terhadap ekspresi MDA dan MMP-3 pada tikus jantan galur wistar akibat paparan UVB.

Ekstrak kulit buah naga 10% yang telah dilakukan uji fitokimia terbukti mengandung flavonoid, salah satunya Antosianin. Hasil ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa ekstrak kulit buah naga mempunyai antioksidan yang kuat dengan nilai IC50 sehingga diduga mampu berperan dalam penurunan kadar ROS.¹⁰ Penelitian ini menggunakan tikus jantan galur wistar yang dilakukan paparan sinar UVB dengan Panjang gelombang UVB 302 nm, dosis 160mJ/cm² selama 5 hari. Hasil penyinaran UVB pada tikus menunjukkan terdapat penurunan kolagen yang terlihat dengan pengecatan *Masson Tricome*. Hal ini sesuai dengan penelitian dahulu yang menunjukkan terdapatnya pengurangan kolagen pada kulit tikus setelah paparan UVB.⁴⁷

Pada penelitian pemberian krim ekstrak kulit buah naga super merah 10% pada kulit tikus jantan galur wistar yang diradiasi UVB menunjukkan bahwa ROS yang dilihat dari ekspresi MDA dalam sel menurun setelah perlakuan dengan pemberian krim ekstrak kulit buah naga super merah. Ekspresi MMP-3 terbukti secara signifikan mengalami penurunan. Hasil ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa ekspresi MDA akan menurun dengan pemberian antioksidan. Peningkatan MDA akan berdampak pada teraktivasi MAPK yang menyebabkan MAPK merupakan

keluarga enzim yang terdiri dari tiga jenis yaitu ERK, c-Jun, c-Fos, dan p38 kinase. Aktivasi jalur MAPK melalui reseptor tirosin kinase mengaktifasi ekspresi c-Jun dan c-Fos akan membentuk AP-1 yang berperan penting dalam regulasi transkripsi MMP-3³³.

Penelitian terdahulu membuktikan bahwa antioksidan dapat memperlambat terjadinya stress oksidatif pada kulit yang diberikan paparan UVB. Salah satu kandungan senyawa pada kulit ekstrak buah naga adalah Antosianin yang digunakan untuk menghambat terjadinya photoaging, di antaranya adalah senyawa fenolik seperti flavonoid (katekin, proantosianidin, antosianin), asam fenolik (benzoat, galat, dan asam sinamat).³⁷

Senyawa fenolik dari tanaman mempunyai beberapa efek, yaitu antioksidan, antiinflamasi, antiproliferasi, antimutagenik, antimikrobial, dan antikarsinogenik. Senyawa tersebut dapat mencegah penetrasi radiasi ke dalam kulit dan mengurangi reaksi peradangan serta stress oksidatif. Pada penelitian *in vitro*, pemberian antosianin dapat menurunkan kadar sitokin proinflamasi dengan menurunkan aktivasi factor transkripsi Nf-kB¹³. Dibuktikan pula bahwa pemberian ekstrak antosianin dari kulit ubi jalar ungu pada kulit yang dipapar sinar UVB dapat memperbaiki kehilangan cairan, degradasi kolagen, hiperplasia epidermal, dan pembentukan keriput melalui regulasi jalur MAPK dan sinyal Nf-kB⁴².

5.4. Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan penelitian ini adalah belum diperiksanya pengecatan kolagen setelah perlakuan untuk membuktikan efek radiasi UVB yang dapat dilihat langsung dari gambaran histopatologi. Masih banyak marker lain yang dapat diperiksa untuk menganalisis kadar ROS maupun inflamasi setelah dilakukan perlakuan.



BAB VI

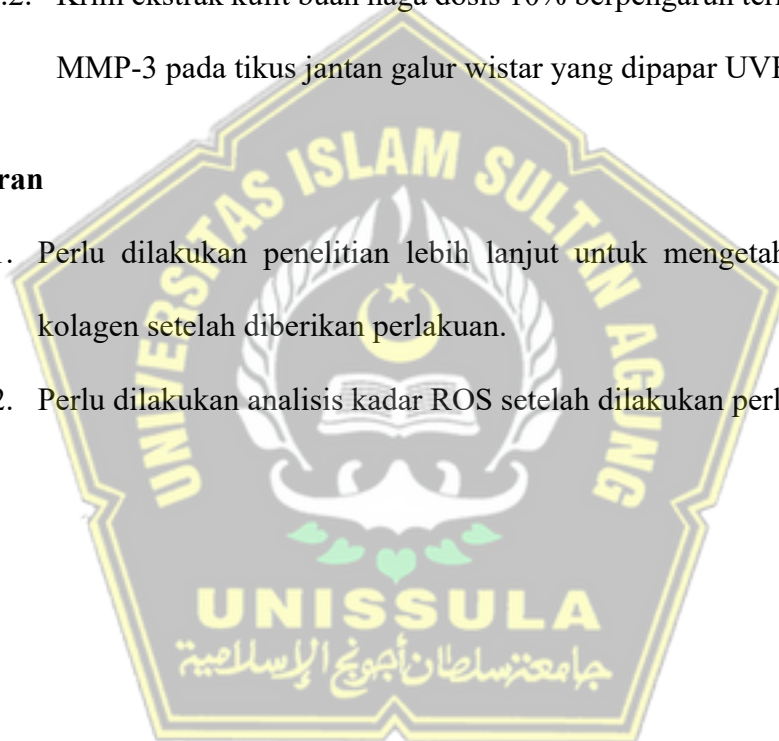
KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

- 6.1.1. Krim ekstrak kulit buah naga dosis 10% secara topical menurunkan ekspresi MDA pada tikus jantan galur wistar yang dipapar UVB.
- 6.1.2. Krim ekstrak kulit buah naga dosis 10% berpengaruh terhadap ekspresi MMP-3 pada tikus jantan galur wistar yang dipapar UVB.

6.2. Saran

- 6.2.1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui penurunan kolagen setelah diberikan perlakuan.
- 6.2.2. Perlu dilakukan analisis kadar ROS setelah dilakukan perlakuan.



DAFTAR PUSTAKA

1. Choudhary S and TJC and LA and NK. Photodamage, part 1: pathophysiology, clinical manifestations, and photoprotection. *Cosmetic Dermatology*. 2010;23(10):460–6.
2. Yin S, Wang Y, Liu N, Yang M, Hu Y, Li X, et al. Potential skin protective effects after UVB irradiation afforded by an antioxidant peptide from *Odorrana andersonii*. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2019 Dec 1;120.
3. Wang S, Yang M, Yin S, Zhang Y, Zhang Y, Sun H, et al. A new peptide originated from amphibian skin alleviates the ultraviolet B-induced skin photodamage. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2022 Jun 1;150.
4. Si Y, Liu W, McClements DJ, Chen X, Hu Z, Zou L. Ameliorative effects of snake (*Deinagkistrodon acutus*) oil and its main fatty acids against UVB-induced skin photodamage in mice. *J Photochem Photobiol B*. 2019 Aug 1;197.
5. Li C, Fu Y, Dai H, Wang Q, Gao R, Zhang Y. Recent progress in preventive effect of collagen peptides on photoaging skin and action mechanism. Vol. 11, *Food Science and Human Wellness*. Elsevier B.V.; 2022. p. 218–29.
6. Baswan SM, Leverett J PJ. Clinical evaluation of the lightening effect of cytidine on hyperpigmented skin. *J Cosmet Dermatol*. 2019;
7. Poon F, Kang S, Chien AL. Mechanisms and treatments of photoaging. Vol. 31, *Photodermatology Photoimmunology and Photomedicine*. Blackwell Publishing Ltd; 2015. p. 65–74.
8. Haveni D, Permana Sari R. Ekstrak Etanol Bunga Kertas (*Bougainvillea*) Pink Sebagai Anti Oksidan Dengan Menggunakan Metode DPPH. Vol. 1, *CHEMICA: Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia*. 2019.
9. Haveni D, Permana Sari R. EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH NAGA SUPER MERAH (*Hylocereus costaricensis*) SEBAGAI ANTI OKSIDAN DENGAN MENGGUNAKAN METODE (DPPH). Vol. 30, *KATALIS Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia*. 2019.
10. Miny Samuel, corresponding author Rebecca Brooke, Sally Hollis and CEG. Interventions for photodamaged skin. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;
11. Savoia P, Raina G, Camillo L, Farruggio S, Mary D, Veronese F, et al. Antioxidative effects of 17 β -estradiol and genistein in human skin fibroblasts and keratinocytes. *J Dermatol Sci*. 2018;92(1):62–77.

12. Khoo HE, Azlan A, Tang ST, Lim SM. Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food Nutr Res.* 2017;61(1).
13. Jo K, Bae GY, Cho K, Park SS, Suh HJ, Hong KB. An anthocyanin-enriched extract from *vaccinium uliginosum* improves signs of skin aging in uvb-induced photodamage. *Antioxidants.* 2020;9(9):1–13.
14. Yukke Nilla Permata, Atina Husaana C. PENGARUH KRIM EKSTRAK UBI UNGU (*Ipomoea Batatas* Var *Ayumurasaki*) TERHADAP MATRIKS METALLOPROTEINASE-1 DAN JUMLAH KOLAGEN DERMIS TIPE-I DAN TIPE-III (Penelitian Eksperimental Pada Mencit BALB/c yang Dipapar Sinar UV-B). *Tunas Medika Jurnal Kedokteran & Kesehatan.* 2021;
15. Lee HJ, Im AR, Kim SM, Kang HS, Lee JD, Chae S. The flavonoid hesperidin exerts anti-photoaging effect by downregulating matrix metalloproteinase (MMP)-9 expression via mitogen activated protein kinase (MAPK)-dependent signaling pathways. *BMC Complement Altern Med.* 2018;18(1):1–9.
16. Yousry C, Saber MM, Abd-Elsalam WH. A Cosmeceutical Topical Water-in-Oil Nanoemulsion of Natural Bioactives: Design of Experiment, in vitro Characterization, and in vivo Skin Performance Against UVB Irradiation-Induced Skin Damages. *Int J Nanomedicine.* 2022;17:2995–3012.
17. Lee TH, Do MH, Oh YL, Cho DW, Kim SH, Kim SY. Dietary fermented soybean suppresses UVB-induced skin inflammation in hairless mice via regulation of the MAPK signaling pathway. *J Agric Food Chem.* 2014 Sep 10;62(36):8962–72.
18. Zucchi H, Pigeon H, Asselineau D, Ghibaud M, Sequeira I, Girardeau-Hubert S. Assessing the Role of Carbonyl Adducts, Particularly Malondialdehyde Adducts, in the Development of Dermis Yellowing Occurring during Skin Photoaging. *Life.* 2022 Mar 1;12(3).
19. Negre-Salvayre A, Salvayre R. Post-Translational Modifications Evoked by Reactive Carbonyl Species in Ultraviolet-A-Exposed Skin: Implication in Fibroblast Senescence and Skin Photoaging. *Antioxidants (Basel)* [Internet]. 2022 Nov 18;11(11). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36421467>
20. Han M, Bae JS, Ban JJ, Shi HS, Lee DH, Chung JH. Black rice (*Oryza sativa* L.) extract modulates ultraviolet-induced expression of matrix metalloproteinases and procollagen in a skin cell model. *Int J Mol Med.* 2018 May 1;41(5):3073–80.

21. Zawrotniak M, Bartnicka D, Rapala-Kozik M. UVA and UVB radiation induce the formation of neutrophil extracellular traps by human polymorphonuclear cells. *J Photochem Photobiol B*. 2019 Jul 1;196.
22. Sharma MR, Mitrani R, Werth VP. Effect of TNF α blockade on UVB-induced inflammatory cell migration and collagen loss in mice. *J Photochem Photobiol B*. 2020 Dec 1;213.
23. de Araújo R, Lôbo M, Trindade K, Silva DF, Pereira N. Fibroblast Growth Factors: A Controlling Mechanism of Skin Aging. Vol. 32, *Skin Pharmacology and Physiology*. S. Karger AG; 2019. p. 275–82.
24. Bochaton-Piallat ML, Gabbiani G, Hinz B. The myofibroblast in wound healing and fibrosis: answered and unanswered questions. *F1000Res*. 2016;5.
25. Pittayapruek P, Meephansan J, Prapapan O, Komine M, Ohtsuki M. Role of matrix metalloproteinases in Photoaging and photocarcinogenesis. Vol. 17, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2016.
26. Terra VA, Souza-Neto FP, Frade MAC, Ramalho LNZ, Andrade TAM, Pasta AAC, et al. Genistein prevents ultraviolet B radiation-induced nitrosative skin injury and promotes cell proliferation. *J Photochem Photobiol B*. 2015;144:20–7.
27. Zhang X, Feng C, Wang S, Wang Y, Fu Z, Zhang Y, et al. A novel amphibian-derived peptide alleviated ultraviolet B-induced photodamage in mice. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2021 Apr 1;136.
28. Reilly DM, Lozano J. Skin collagen through the lifestages: importance for skin health and beauty. *Plast Aesthet Res*. 2021;2021.
29. Chiang HM, Chen CW, Lin TY, Kuo YH. N-phenethyl caffeamide and photodamage: Protecting skin by inhibiting type I procollagen degradation and stimulating collagen synthesis. *Food and Chemical Toxicology*. 2014;72:154–61.
30. Xiao Z, Yang S, Chen J, Li C, Zhou C, Hong P, et al. Trehalose against UVB-induced skin photoaging by suppressing MMP expression and enhancing procollagen I synthesis in HaCaT cells. *J Funct Foods*. 2020 Nov 1;74.
31. Pittayapruek P, Meephansan J, Prapapan O, Komine M, Ohtsuki M. Role of matrix metalloproteinases in Photoaging and photocarcinogenesis. *Int J Mol Sci*. 2016;17(6).
32. Yolanda , Rosi Helfrich, MD., Dana, L., Sachs, MD., John J, Voorhees. M. Overview of Skin Aging and Photoaging. *Dermatology Nursing*. 2008. 177–183 p.

33. Meidayanti Putri N, Gunawan I, Suarsa I. Aktivitas Antioksidan Antosianin Dalam Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Super Merah (*Hylocereus Costaricensis*) Dan Analisis Kadar Totalnya. *Jurnal Kimia*. 2015;9(2):243–51.
34. Jo K, Bae GY, Cho K, Park SS, Suh HJ, Hong KB. An anthocyanin-enriched extract from *vaccinium uliginosum* improves signs of skin aging in uvb-induced photodamage. *Antioxidants*. 2020;9(9):1–13.
35. Sander, C. S., Chang, H., Hamm, F., Elsner, P., Thiele JJ. Role of oxidative stress and the antioxidant network in cutaneous carcinogenesis. *Int J Dermatol*. 2004;
36. Rihhadatulaisy S, Aliza Putriana N. AKTIVITAS ANTI AGING PADA BEBERAPA TANAMAN DENGAN BERBAGAI METODE PENGUJIANNYA. Vol. 18. 2019.
37. Maria Cavinato, Birgit Waltenberger, Giorgia Baraldo, Carla V. C. Grade HS& PJD. Plant extracts and natural compounds used against UVB-induced photoaging. *Biogerontology*. 2017;
38. Maria Cavinato, Birgit Waltenberger, Giorgia Baraldo, Carla V. C. Grade HS& PJD. Plant extracts and natural compounds used against UVB-induced photoaging. *Biogerontology*. 2017;
39. Sun, L., W. He, G. Xin, P. Cai, Y. Zhang, Z. Zhang, Y. Wei, B. Sun and XW. Volatile components, total phenolic compounds, and antioxidant capacities of worm-infected *Gomphidius rutilus*. *Food Science and Human Wellness*. 2018;
40. Abdel-Aal JS and ESM. Food Applications and Physiological Effects of Anthocyanins as Functional Food Ingredients. *The Open Food Science Journal*. 2010;
41. Wang , LS., Stoner GD. Anthocyanins And Their Role in Cancer Prevention. Department of Internal Medicine and Comprehensive Cancer Center, Ohio State University College of Medicine, Columbus. 2008;
42. Zhi, Q., Lei, L., Li, F., Zhao, J., Yin, R., & Ming J. The anthocyanin extracts from purple-fleshed sweet potato exhibited anti-photoaging effects on ultraviolet B-irradiated BALB/c-nu mouse skin. *J Funct Foods*. 2019;
43. Meidayanti Putri N, Gunawan I, Suarsa I. Aktivitas Antioksidan Antosianin Dalam Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Super Merah (*Hylocereus Costaricensis*) Dan Analisis Kadar Totalnya. *Jurnal Kimia*. 2015;9(2):243–51.
44. Yousry C, Saber MM, Abd-Elsalam WH. A Cosmeceutical Topical Water-in-Oil Nanoemulsion of Natural Bioactives: Design of Experiment, in vitro

Characterization, and in vivo Skin Performance Against UVB Irradiation-Induced Skin Damages. *Int J Nanomedicine*. 2022;17:2995–3012.

45. Pdgf DG, Judul H, Putri RS, Studi P, Biomedik M, Kedokteran F. PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUNGA TELANG TERHADAP EKSPRESI GEN GPx Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister Ilmu Biomedik. 2016.
46. Liangjuan M, Jie G, Yingdi L, Municipal C, Ren H, Caxian J, et al. BVD protects against UVB-induced HaCaT keratinocytes photodamage through reactivating Nrf2 antioxidative stress signaling. 2020; Available from: <https://doi.org/10.21203/rs.2.24395/v1>
47. Geng R, Kang SG, Huang K, Tong T. α -Ionone protects against UVB-induced photoaging in epidermal keratinocytes. *Chin Herb Med*. 2022 Jan 1;
48. Peng Z, Hu X, Li X, Jiang X, Deng L, Hu Y, et al. Protective effects of cyanidin-3-O-glucoside on UVB-induced chronic skin photodamage in mice via alleviating oxidative damage and anti-inflammation. *Food Front*. 2020 Sep 1;1(3):213–23.

