

**PENGARUH KRIM EKSTRAK DAUN BIDARA
TERHADAP KADAR MMP-1 DAN DENSITAS
KOLAGEN**

**(Studi Eksperimental Pada Kulit Tikus Wistar Jantan Yang Dipapar Sinar
Ultraviolet B Subkronik)**

Tesis

Untuk memenuhi persyaratan mencapai derajat Magister S2



Magister Ilmu Biomedik

Inna Sholati

MBK2321010355

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG 2025**

TESIS
PENGARUH KRIM EKSTRAK DAUN BIDARA
TERHADAP KADAR MMP-1 DAN DENSITAS
KOLAGEN

(Studi Eksperimental Pada Kulit Tikus Wistar Jantan
Yang Dipapar Sinar Ultraviolet B Subkronik)

disusun oleh:
Inna Sholati
MBK 2321010355

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 12 Juni 2025
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui:

Pembimbing I,



Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp. D.V.E,
Subsp.D.K.E, FINS DV, FAADV
NIK. 130530279

Pembimbing II,



Dr. dr. Setyo Trisnadi, SH, Sp.KF
NIK. 210199049

Mengetahui,

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




Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B., FINACS
NIK 210 113 160

SURAT PERNYATAAN

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



Semarang, 14 Agustus 2025



Inna Sholati

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : dr Inna Sholati
Tempat, tanggal lahir : Jambi, 16 September 1986
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN 42 kota jambi : lulus tahun 1998
2. SMPN 11 kota jambi : lulus tahun 2001
3. SMAN 1 kota jambi : lulus tahun 2004
4. FK Universitas Jambi : lulus tahun 2012
5. Magister Ilmu Biomedik FK UNISSULA: 2023 – sekarang)

C. Riwayat Pekerjaan

1. Tahun 2012-2018 : Dokter di Natasha Klinik
2. Tahun 2019-2020 : General Manager & Dokter di Chloe Kalena klinik
3. Tahun 2020-2022 : Dokter di Marck and Venus klinik by Kimia Farma.
4. Tahun 2022- Sekarang : Owner & Dokter Skin Frame klinik Bandung

D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang Tua
Ayah : Bachtiar Achmad
Ibu : Darmawati
2. Nama Suami : Eko Galih Pribadi
3. Nama Anak : 1. Emily Kalila Pribadi
2. El Basil Pribadi
3. Eleana Tiga Pribadi

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan Hidayahnya Sehingga Penyusun Dapat Menyelesaikan Penyusunan Tesis Dengan Judul “Pengaruh Krim Ekstrak Daun Bidara Terhadap Kadar Mmp-1 Dan Kolagen (Studi Eksperimental Pada Kulit Tikus Wistar Jantan Yang Dipapar Sinar Ultraviolet B Subkronik)”

Pada penyusunan tesis ini penyusun mendapat pengarahan dan bimbingan, untuk itu penyusun ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat:

1. Prof Dr. H. Gunarto, SH., M.Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung beserta para wakil rektor yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh dan menyelesaikan Pendidikan Magister Ilmu Biomedik.
2. Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H. Sp.F selaku dekan Fakultas Kedokteran UNISSULA dan pembimbing II yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti pendidikan di program Magister Ilmu Biomedik, dan memberikan dorongan, semangat bimbingan masukan kepada penyusun selama penyusunan tesis ini.
3. Dr. dr. Eko Stiawan Sp.B selaku ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang telah memberikan dorongan, semangat kepada penyusun selama penyusunan tesis ini.
4. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp. D.V.E, Subsp.D.K.E, FINSVD,

FAADV selaku pembimbing I yang telah memberikan dorongan, semangat, bimbingan dan masukan kepada penyusun selama penyusunan tesis.

5. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes selaku penguji I yang telah memberikan kritik, saran, dan bimbingan selama penyusunan tesis.
6. Prof. Dr. Atina Husaana, M.Si, Apt selaku penguji II yang juga memberikan kritik, saran, dan bimbingannya selama penyusunan tesis.
7. Dr. dr. Pasid Harlisa, Sp.D.V.E, FINSADV, FAADV selaku penguji III yang juga memberikan kritik, saran, dan bimbingannya selama penyusunan tesis.
8. Kedua orang tua yang telah memberikan dorongan, serta doa sehingga tesis ini dapat diselesaikan.
9. Suami dan anak-anak tercinta yang telah memberikan dorongan, semangat serta doa sehingga tesis ini dapat diselesaikan.
10. Seluruh staf, rekan sejawat dan teman sesama peserta didik program Magister Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung yang telah memberikan dukungan dan bantuan dalam menyelesaikan tesis ini.

Tak ada gading yang tak retak, kesempurnaan hanyalah milik Allah SWT. Manusia tidak luput dari kesalahan, penyusun menyadari atas segala kekurangan dalam penulisan tesis ini, semoga tetap dapat memberikan manfaat bagi penyusun pribadi, bagi Program Pendidikan Magister Program Studi Ilmu Biomedik serta bagi pihak-pihak lain yang berkepentingan. Akhir kata semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan berkah dan rahmatNya kepada Kita semua, aamiin.

Semarang, Juni 2025

Inna Sholati

ABSTRAK

Latar Belakang: Photoaging dapat disebabkan paparan sinar UV yang merusak DNA, meningkatkan stres oksidatif, dan degradasi kolagen melalui aktivasi MMP-1. Penggunaan retinol dapat menghambat MMP-1 dan melindungi kulit dari kerusakan UV, namun berisiko menimbulkan iritasi dan meningkatkan sensitivitas terhadap sinar matahari. Tanaman Bidara (*Ziziphus mauritiana*) memiliki potensi antioksidan dan antiinflamasi untuk mengatasi kerusakan kulit akibat UVB. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh krim ekstrak daun bidara terhadap MMP-1 dan kolagen pada kulit tikus Wistar yang dipapar sinar UVB.

Metode: Penelitian ini merupakan eksperimen *in vivo* dengan desain *post test only control group*, yang melibatkan kelompok sehat (K1), kontrol negatif (K2) yang dipapar UVB tanpa perlakuan, perlakuan 1 (K3) dengan krim retinol, dan perlakuan 2 (K4) dengan krim ekstrak daun bidara 5%. Data dianalisis menggunakan SPSS dengan uji One-Way Anova dan Post-hoc Tamhane untuk kadar MMP-1 ($p < 0,05$) serta uji Kruskal-Wallis untuk densitas kolagen ($p < 0,05$).

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan kadar MMP-1 tertinggi pada kelompok krim ekstrak daun bidara 5% (7,51 ng/mL), diikuti krim retinol (6,31 ng/mL), kontrol negatif (5,46 ng/mL), dan sehat (5,09 ng/mL). Uji One-Way Anova menunjukkan perbedaan signifikan ($p = 0,000$), dengan perbedaan bermakna antara K1 dan K3, K1 dan K4, serta K2 dan K4. Densitas kolagen tertinggi ditemukan pada kelompok sehat (100%), diikuti krim retinol (97,50%), krim daun bidara 5% (95,83%), dan kontrol negatif (95,00%). Uji Kruskal-Wallis menunjukkan perbedaan tidak signifikan ($p = 0,071$).

Kesimpulan: Pemberian krim ekstrak daun bidara 5% efektif meningkatkan kadar MMP-1 pada kulit tikus yang dipapar sinar UVB, tetapi tidak berpengaruh signifikan terhadap densitas kolagen.

Kata Kunci: Krim daun bidara, MMP-1, densitas kolagen, UVB

ABSTRACT

Background: Photoaging can be caused by UV exposure that damages DNA, increases oxidative stress, and collagen degradation through MMP-1 activation. The use of retinol can inhibit MMP-1 and protect the skin from UV damage, but has the risk of causing irritation and increasing sensitivity to sunlight. The Bidara plant (*Ziziphus mauritiana*) has antioxidant and anti-inflammatory potential to overcome skin damage caused by UVB. This study aims to evaluate the effect of bidara leaf extract cream on MMP-1 and collagen in the skin of Wistar rats exposed to UVB rays.

Methods: This study is an *in vivo* experiment with a post test only control group design, involving a healthy group (K1), a negative control (K2) exposed to UVB without treatment, treatment 1 (K3) with retinol cream, and treatment 2 (K4) with 5% bidara leaf extract cream. Data were analyzed using SPSS with One-Way Anova and Post-hoc Tamhane tests for MMP-1 levels ($p < 0.05$) and Kruskal-Wallis tests for collagen density ($p < 0.05$).

Results: The results showed the highest MMP-1 levels in the 5% bidara leaf extract cream group (7.51 ng/mL), followed by retinol cream (6.31 ng/mL), negative control (5.46 ng/mL), and healthy (5.09 ng/mL). The One-Way Anova test showed significant differences ($p = 0.000$), with significant differences between K1 and K3, K1 and K4, and K2 and K4. The highest collagen density was found in the healthy group (100%), followed by retinol cream (97.50%), 5% bidara leaf cream (95.83%), and negative control (95.00%). Kruskal-Wallis test showed no significant difference ($p = 0.071$).

Conclusion: Administration of 5% bidara leaf extract cream effectively increased MMP-1 levels in the skin of mice exposed to UVB rays, but had no significant effect on collagen density.

Keywords: Bidara leaf cream, MMP-1, collagen density, UVB

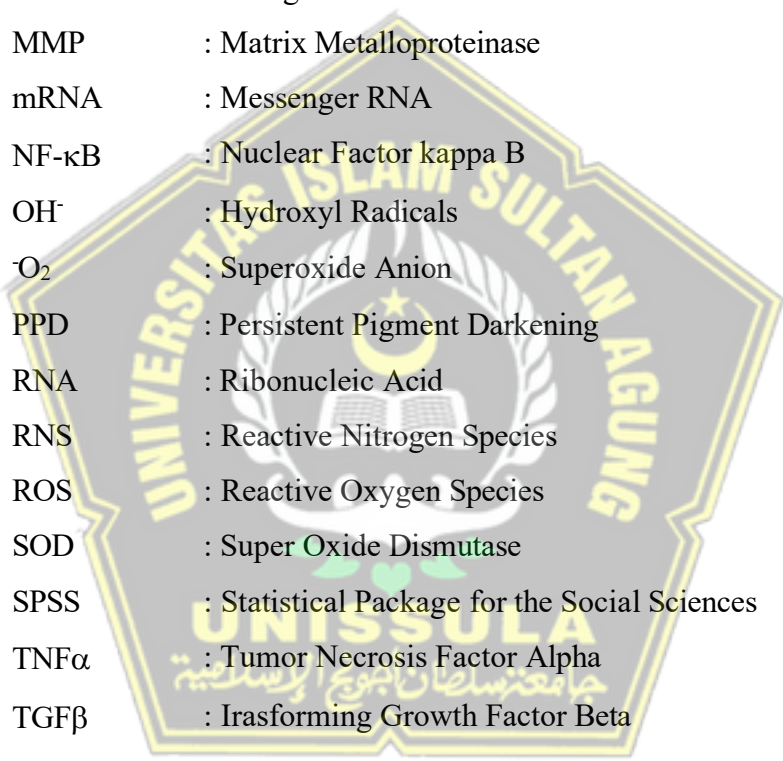
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK.....	vii
<i>ABSTRACT</i>	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR SINGKATAN.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang Masalah.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum.....	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2. Manfaat Praktis.....	5
1.5. Originalitas Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1. Kulit Manusia	8
2.1.1. Epidermis.....	8
2.1.2. Dermis.....	10
2.1.3. Fibroblas	11
2.2. Matrix Metalloproteinase	11
2.2.1. Aktivitas MMP-1	14

2.2.2. Kolagen.....	15
2.3. Sinar Ultraviolet	22
2.3.1. <i>Photoaging</i> Akibat Paparan UVB.....	24
2.3.2. Radikal Bebas	29
2.3.3. Radikal Bebas Akibat Paparan UVB	30
2.3.4. <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS).....	31
2.4. Krim.....	32
2.5. Retinol	33
2.6. Daun Bidara.....	35
2.6.1. Kandungan Daun Bidara.....	36
2.7. Hewan Coba Tikus (<i>Ratus Novergicus</i>).....	42
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS.....	44
3.1. Kerangka Teori	44
3.2. Kerangka Konsep.....	48
3.3. Hipotesis	48
BAB IV METODE PENELITIAN	49
4.1. Jenis Penelitian Dan Rancangan Penelitian.....	49
4.2. Populasi Dan Sampel Penelitian.....	50
4.2.1. Populasi/Subjek penelitian	50
4.2.2. Besar Sampel	50
4.2.3. Kriteria Sampel penelitian	51
4.2.4. Teknik Sampel Penelitian	52
4.3. Variabel Dan Definisi Operasional.....	52
4.3.1. Variabel Penelitian.....	52
4.3.2. Variabel Prakondisi.....	53
4.3.3. Variabel Bebas.....	53
4.3.4. Variabel Tergantung	53
4.3.5. Variabel Kendali	53
4.3.6. Definisi Operasional Variabel	54
4.4. Bahan/Materi Penelitian	55
4.5. Peralatan Penelitian	56

4.5.1. Alat untuk membuat ekstrak daun bidara	56
4.5.2. Alat untuk pemeliharaan tikus	56
4.5.3. Alat untuk pemeriksaan Imunohistokimia.....	56
4.5.4. Alat untuk pemeriksaan histopatologi	56
4.6. Cara Penelitian.....	57
4.6.1. Perolehan <i>Ethical Clearance</i>	57
4.6.2. Persiapan Sebelum Perlakuan.....	57
4.6.3. Pembuatan krim ekstrak daun bidara.....	57
4.6.4. Penetapan Dosis Krim Ekstrak daun bidara	59
4.6.5. Cara Pemberian Krim Ekstrak daun bidara dan Paparan sinar UVB.....	59
4.6.6. Terminasi Tikus.....	60
4.6.7. Metode Elisa Kadar MMP-1.....	61
4.7. Alur Penelitian.....	69
4.8. Teknik Pengumpulan Data	70
4.9. Analisa Data	70
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	72
5.1. Hasil Penelitian.....	72
5.1.1. Hasil Analisis Kadar MMP-1	73
5.1.2. Hasil Analisis Densitas Kolagen.....	75
5.2. Pembahasan	79
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	90
6.1. Kesimpulan.....	90
6.2. Saran	90
DAFTAR PUSTAKA	92
LAMPIRAN.....	99

DAFTAR SINGKATAN



AAM	: Anti Aging Medicine
AP1	: Activator Protein
ECM	: Extra Cellular Matrix
HRP	: Avidin-Horseradish Peroksidase
H ₂ O ₂	: Hydrogen Peroxide
IPD	: Immediate Pigment DarkeninG
MAPK	: Mitogen Activated Protein Kinase
MMP	: Matrix Metalloproteinase
mRNA	: Messenger RNA
NF-κB	: Nuclear Factor kappa B
OH [•]	: Hydroxyl Radicals
[•] O ₂	: Superoxide Anion
PPD	: Persistent Pigment Darkening
RNA	: Ribonucleic Acid
RNS	: Reactive Nitrogen Species
ROS	: Reactive Oxygen Species
SOD	: Super Oxide Dismutase
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
TNFα	: Tumor Necrosis Factor Alpha
TGFβ	: Irasforming Growth Factor Beta
UV	: Ultraviolet
UVA	: Ultraviolet A
UVB	: Ultraviolet B
UVC	: Ultraviolet C
¹ O ₂	: Singlet Oxygen

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian	5
Tabel 4.1. Formula Krim Ekstrak Daun Bidara 5%.....	59
Tabel 4.2. Hasil uji Skrining Kualitatif Fitokimia Ekstrak Daun Bidara 5 %.....	59
Tabel 5.1. Hasil penelitian kadar MMP-1(ng/mL) pada jaringan kulit.....	73
Tabel 5.2. Hasil uji Post hoc tamhane kadar MMP-1 (ng/mL) antar kelompok penelitian	74
Tabel 5.3. Hasil penelitian densitas kolagen (%) pada jaringan kulit	77



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Struktur kulit.	8
Gambar 2.2.	Stres oksidatif yang dipicu oleh ROS berperan dalam kerusakan dermis melalui induksi berbagai MMP.	13
Gambar 2.3.	<i>Photoaging</i> menyebabkan penurunan level kolagen pada dermis.	19
Gambar 2.4.	Fragmentasi Serat Kolagen Dermis dan Fibroblas yang Kolaps... ..	20
Gambar 2.5.	Perbandingan kolagen muda (kiri) dan kolagen yang telah menua kanan.....	21
Gambar 2.6.	Mekanisme UVB menginduksi skin aging.	26
Gambar 2.7.	Gambaran histologi kulit yang mengalami <i>photoaging</i>	29
Gambar 2.8.	Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) galur Wistar.	42
Gambar 3.1.	Hubungan antar Variabel.....	47
Gambar 3.2.	Kerangka konsep	48
Gambar 4.1.	Alur Rancangan Penelitian	49
Gambar 4.2.	Alur Penelitian	69
Gambar 5.1.	Grafik rerata kadar MMP-1 dan Post hoc tamhane antar kelompok	75
Gambar 5.2.	Hasil pewarnaan Picro Sirius Red pada tiap kelompok menggunakan mikroskop perbesaran 400x	76
Gambar 5.3.	Grafik rerata densitas kolagen antar kelompok	78

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil analisis kadar MMP-1	99
Lampiran 2. Hasil analisis Densitas kolagen.....	100
Lampiran 3. Hasil analisis Densitas kolagen dengan pewarnaan Picro Sirius Red.....	101
Lampiran 4. Surat Izin Penelitian.....	102
Lampiran 5. Surat <i>Ethichal Clearance</i>	103
Lampiran 6. Hasil Analisis SPSS kadar MMP-1	104
Lampiran 7. Hasil Analisis SPSS Densitas kolagen.....	106
Lampiran 8. Dokumentasi kegiatan penelitian.....	108



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Photoaging adalah proses penuaan kulit yang disebabkan oleh paparan sinar ultraviolet (UV) dari matahari.¹ Paparan sinar matahari memicu berbagai perubahan molekuler dan seluler pada kulit, seperti kerusakan DNA, peningkatan stres oksidatif, reaksi peradangan, serta modifikasi aktivitas sel imun. Perubahan-perubahan ini secara keseluruhan berperan dalam proses penuaan kulit dan munculnya gangguan kulit yang berhubungan.^{1,2} Perubahan pada tingkat molekuler di kulit melibatkan peningkatan aktivitas Matriks Metalloproteinase-1 (MMP-1), yang berfungsi dalam proses degradasi kolagen.³ Retinol merupakan bahan aktif yang efektif dalam produk kosmetik, tidak hanya memberikan efek anti-penuaan tetapi juga melindungi kulit dari kerusakan akibat sinar UV dengan menghambat aktivitas *matriks metalloproteinase*. Namun, penggunaan bahan ini dapat menimbulkan efek samping seperti kemerahan (eritema), pengelupasan, dan peningkatan sensitivitas terhadap sinar matahari, sehingga perlu penanganan yang cermat selama proses perawatan.⁴ Belum banyak produk anti-aging yang menggunakan bahan alam sebagai antioksidan dan menghambat degradasi kolagen oleh enzim *matriks metalloproteinase* (MMP-1) yang diinduksi oleh paparan sinar UV. Tanaman Bidara memiliki efek antioksidan dan anti-inflamasi yang potensial, menjadikannya komponen penting dalam formulasi yang bertujuan mengatasi *photoaging* dan kerusakan kulit

akibat paparan UVB. Penelitian ini mendukung pemanfaatan tanaman bidara dalam aplikasi topikal, khususnya dalam formulasi krim yang mengandung senyawa aktifnya untuk menangani *photoaging* dan kerusakan kulit yang disebabkan oleh paparan UVB.

Paparan sinar UV-B memicu pembentukan radikal bebas pada kulit, yang dapat menyebabkan stres oksidatif, kerusakan sel, inflamasi, serta berkontribusi pada penuaan kulit akibat cahaya (*photoaging*) dan risiko kanker kulit.^{1,2} Kerusakan kulit karena paparan sinar UV disebabkan oleh generasi ROS dan berbagai faktor inflamasi.² Radiasi sinar UV-B dapat menembus epidermis dan dapat menginduksi kerusakan DNA pada sel-sel kulit dengan meningkatkan konsentrasi reactive oxygen species (ROS).^{1,2,5} Kelainan kulit yang diakibatkan oleh radiasi sinar UV bermula dari pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) dan sintesis MMP-1 oleh fibroblas dermis yang berperan pada penuaan kulit.^{1,2,5} Sinar UV menginduksi radikal ROS untuk berperan sebagai perantara sekunder untuk mengaktifasi famili MAPK yang berujung pada kerusakan genetik persisten, ditandai dengan peningkatan ekspresi AP-1 dan MMP.^{1,2,5} Radiasi UV juga mampu menurunkan ekspresi inhibitor MMP, yaitu TIMPs, yang mengakibatkan peningkatan degradasi kolagen serta berhubungan dengan kerusakan jaringan dan respon peradangan.^{1,2,5}

Krim tabir surya sangat penting untuk melindungi kulit dari bahaya radiasi UV.^{4,6} Tabir surya yang diperkaya dengan antioksidan memiliki peran penting dalam mencegah penuaan dengan melindungi kulit dari stres

oksidatif akibat radiasi UV.^{6,7} Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa sifat antioksidan daun bidara dapat dimanfaatkan secara optimal dalam formulasi krim antipenuaan. Selain itu, daun ini juga berperan dalam melembapkan kulit, meningkatkan elastisitas, dan mengurangi pigmentasi.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa penggunaan krim berbahan ekstrak daun *Ziziphus mauritiana* yang memiliki sifat antioksidan dan mendukung peremajaan kulit berpotensi untuk memodulasi aktivitas MMP1 serta membantu mempertahankan kadar kolagen di kulit.^{8,9} Daun bidara tidak hanya memiliki efek antioksidan, tetapi juga menunjukkan berbagai aktivitas biologis lainnya, termasuk antikanker, antibakteri, antidiabetes, dan antidiare.^{10,11}

Berdasarkan uraian tersebut peneliti tertarik melakukan penelitian untuk membuktikan apakah terdapat pengaruh pemberian krim ekstrak daun bidara (*Ziziphus Mauritiana*) dalam menghambat peningkatan kadar MMP-1 dan penurunan densitas kolagen pada kulit tikus Wistar jantan (*Rattus Norvegicus*) yang dipapar sinar ultraviolet B.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka disusun rumusan masalah yaitu apakah terdapat pengaruh pemberian krim ekstrak daun bidara (*Ziziphus Mauritiana*) dalam menghambat peningkatan kadar MMP-1 dan penurunan densitas kolagen pada kulit tikus Wistar jantan (*Rattus Norvegicus*) yang dipapar sinar ultraviolet B.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian krim ekstrak daun bidara terhadap kadar MMP-1 dan kolagen pada kulit tikus Wistar jantan yang dipapar sinar ultraviolet B.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Membuktikan pengaruh pemberian krim ekstrak daun bidara dalam menghambat peningkatan kadar MMP-1 pada kulit tikus Wistar jantan yang dipapar sinar ultraviolet B.
2. Membuktikan pengaruh pemberian krim ekstrak daun bidara dalam menghambat penurunan densitas kolagen pada kulit tikus Wistar jantan yang dipapar sinar ultraviolet B.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah mengenai peran pemberian krim ekstrak daun bidara terhadap kadar MMP-1 dan kolagen pada tikus yang diinduksi sinar UV-B.

1.4.2. Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang manfaat penggunaan ekstrak daun bidara dalam melindungi kulit dari kerusakan yang disebabkan oleh paparan sinar UV, sehingga ekstrak tersebut dapat dimanfaatkan sebagai perlindungan terhadap sunburn.

1.5. Originalitas Penelitian

Hasil pencarian sumber pustaka menunjukan saat ini belum ada secara molecular tentang penelitian yang menilai pengaruh pemberian krim ekstrak daun bidara terhadap kadar MMP-1 dan kolagen yang diinduksi sinar UVB pada tikus wistar. Beberapa penelitian yang berhubungan dengan penelitian ini diantaranya:

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian

No.	Peneliti	Judul	Metode	Hasil penelitian
1.	Akhtar N, Ijaz S, Khan HMS, Uzair B, Khan BA, Khan BA. Ziziphus 2016	<i>Ziziphus mauritiana leaf extract emulsion for skin rejuvenation</i>	Eksperimental , in vivo	Ekstrak daun <i>Ziziphus mauritiana</i> memiliki sifat anti-penuaan, serta efek mencerahkan kulit, melembabkan, dan viskoelastik pada kulit manusia. Hasil ini mendukung potensi penggunaan ekstrak alami ini dalam formulasi kosmetik yang ditujukan untuk peremajaan kulit
2.	Karlina L, Wikanta	Efektivitas ekstrak daun bidara	Eksperimental , in vivo	Pemberian ekstrak daun bidara efektif

- W,2018 (*Ziziphus mauritiana*) dalam penyembuhan Luka iris pada mencit jantan (*Mus musculus*) dalam penyembuhan luka iris
3. Lestari G, Samudera AG, Putri D, Safira AR,2021 Uji antiinflamasi sediaan krim tipe m/a ekstrak daun bidara Arab (*Ziziphus mauritiana* Lam) terhadap mencit putih jantan (*Mus musculus* 1) Eksperimental , In Vivo Krim yang diformulasikan dengan ekstrak daun bidara arab, terutama pada konsentrasi 15% (formula 3), menunjukkan efek anti-inflamasi yang signifikan pada mencit putih jantan.
4. Maria Ulfa A, Junaida R, 2023 Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Dan Analisis Proksimat Terhadap Ekstrak Etanol Daun Bidara Arab (*Ziziphus Mauritiana* L) Eksperimental , in vitro Ekstrak bidara arab mengandung Alkaloid, Glikosid, Saponin, Terpenoid, Steroid, Flavonoid, Tanin, Antrakuinon
5. Sakka la, muin rahmatullah, 2022 Identifikasi kandungan senyawa antioksidan ekstrak Daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) Dengan Menggunakan metode DPPH Eksperimental, in vitro Ekstrak etanol daun bidara menunjukkan aktivitas antioksidan yang sedang.
6. Haeria, Hermawati, Andi Tenri Ugi Dg. Pine, 2016 Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) Eksperimental , in vitro Ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) memiliki potensi sebagai antioksidan yang kuat.

Berdasarkan tinjauan terhadap enam penelitian sebelumnya, terdapat kesamaan dan perbedaan yang relevan. Secara umum, seluruh penelitian memiliki tujuan yang serupa, yakni mengembangkan produk herbal untuk menangani penuaan. Salah satu kesamaan utama yang terlihat adalah penggunaan ekstrak daun bidara sebagai bahan utama, yang menunjukkan potensi besar tanaman ini dalam pengembangan produk perawatan kulit.

Penelitian Akhtar menunjukkan bahwa krim yang mengandung ekstrak daun *Ziziphus mauritiana* memiliki potensi besar sebagai formulasi anti-penuaan, dengan manfaat yang mencakup peremajaan kulit, pencerahan, dan hidrasi, serta menunjukkan kestabilan yang baik untuk aplikasi topikal.⁸ Penelitian lain yang dilakukan Maria menganalisis kandungan senyawa dalam tanaman bidara, seperti alkaloid, glikosida saponin, terpenoid, steroid, flavonoid, tanin, dan antrakinon.¹² Penelitian yang dilakukan Lestari menunjukkan bahwa ekstrak daun Bidara dapat diformulasikan secara efektif menjadi krim dengan sifat anti-inflamasi yang signifikan, terutama pada konsentrasi yang lebih tinggi.¹³ Hasil penelitian Karlina mendukung pemanfaatan ekstrak daun bidara sebagai pengobatan efektif untuk mempercepat penyembuhan luka, sehingga menunjukkan potensinya dalam aplikasi herbal tradisional.¹⁴ Penelitian ini menekankan potensi manfaat kesehatan dari daun bidara, yang didukung oleh kandungan flavonoid dan sifat antioksidannya, serta mendorong penelitian lebih lanjut untuk pengembangan aplikasi terapeutik.¹⁵

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kulit Manusia

Kulit adalah membran lapisan ganda yang menutupi bagian eksterior tubuh. Kulit tersusun atas epidermis dengan susunan selular berlapis dan dermis yang berisi jaringan ikat. Epidermis tersusun atas keratinosit dan memiliki ketebalan sekitar 0,05-0,1 mm.¹⁶ Dermis mengandung kolagen, jaringan elastis, dan zat-zat lainnya dengan ketebalan bervariasi sesuai lokasi (Gambar 2.1).^{16,17}



Gambar 2.1. Struktur kulit.¹⁶

2.1.1. Epidermis

Lapisan epidermis terdiri dari 5 lapisan yang berurutan dari luar ke dalam yaitu stratum korneum, stratum lusidum, stratum granulosum, stratum spinosum dan stratum basalis. Pada stratum granulosum terdapat sel langerhans yang berperan pada sistem imun tubuh.^{16,17} Stratum basal, atau biasa dikenal sebagai stratum

germinativum, adalah lapisan terdalam yang terpisah dari dermis dan dibatasi oleh membrana basalis. Stratum basal menempel pada membrana basalis melalui hemidesmosom. Stratum basalis berisi sel basal yang mampu berproliferasi membentuk sel baru yang didorong ke atas menuju stratum spinosum, lalu ke stratum granulosum kemudian ke stratum lucidum dan terakhir ke stratum korneum berupa sel keratinosit yang akhirnya akan di lepas oleh kulit. Proses tersebut disebut dengan keratinogenesis yang berlangsung sekitar 21-28 hari.^{16,17}

Sel pada stratum basal berbentuk kuboid hingga kolumnar, aktif melakukan mitosis untuk memproduksi keratinosit dan melanosit. Stratum spinosum terdiri atas 8-10 lapis sel polihedral ireguler dengan proses sitoplasmik. Proses sitoplasmik akan menonjol keluar, membentuk ikatan dengan sel di sekitarnya menggunakan desmosom. Sel dendritik juga dapat ditemukan pada stratum spinosum. Stratum granulosum tersusun atas 3-5 lapis sel berbentuk wajik dengan granul keratohyalin dan lamelar. Granul keratohyalin berisi prekursor keratin, sedangkan granul lamelat berisi glikolipid. Stratum lucidum hanya ditemukan pada lapisan kulit yang tebal seperti telapak tangan dan kaki. Stratum lucidum tersusun atas 2-3 lapisan tipis transparan yang berisi eleidin berupa transformasi dari keratohyalin. Lapisan paling atas yaitu stratum korneum tersusun atas 20-30 lapis berisi sel tanduk dari keratinosit yang sudah mati, atau

dikenal sebagai sel skuamous anukleus.¹⁶

2.1.2. Dermis

Lapisan dermis terhubung dengan epidermis pada bagian membrana basalis. Dermis tersusun atas dua lapisan jaringan ikat yaitu lapisan papiler dan retikuler. Lapisan papiler di bagian atas tersusun atas jaringan ikat longgar dan bersentuhan dengan epidermis, sedangkan lapisan retikuler di bagian dalam terusus atas jaringan ikat tebal dan padat dengan selularitas minimal.¹⁶ Dermis berisi kelenjar keringat, rambut, folikel rambut, otot, neuron sensoris, dan vasa darah. Setelah dermis terdapat lapisan hipodermis atau fascia subkutan. Hipodermis merupakan lapisan terdalam kulit yang berisi lobul adiposa dengan folikel rambut, neuron sensoris, dan vasa darah. Pars retikularis mengandung unsur fibrous yang lebih padat dibandingkan dengan pars papilaris. Unsur fibrous terdiri dari:¹⁶

- a. Kolagen: merupakan 70% dari berat kering seluruh jaringan ikat yang terbentuk oleh fibroblas, tersusun atas fibrin dari rantai polipeptida. Kolagen ini bertanggung jawab pada ketegangan kulit dan kekuatan kulit. Kolagen utama penyusun dermis adalah kolagen tipe 1 sebanyak 80% dan kolagen tipe 3 sebanyak 20%.¹⁶
- b. Elastin: hanya 2% dari berat kering seluruh jaringan ikat. Serat elastin ini juga Dibentuk oleh fibroblast akan tetapi sunannya lebih halus dibandingkan kolagen. Serat elastin ini bertanggung jawab atas elastisitas kulit.¹⁶

2.1.3. Fibroblas

Fibroblas merupakan sel yang utama di dermis dan bertanggung jawab untuk mensintesis elemen-elemen matriks ekstraseluler di dermis, seperti kolagen, elastin, retikulin dan *proteoglycan-glycosaminoglycan macromolecul*. Selain itu fibroblast juga mengontrol turnover jaringan penunjang dengan mensekresi enzim-enzim yang mendegradasi kolagen, elastin, proteoglikan, dan glikosaminoglikan.¹⁶ Pada usia muda fibroblas banyak memproduksi protein penyusun matriks ekstraseluler akan tetapi dengan bertambahnya usia, fibroblas berkurang keaktifannya untuk memproduksi protein matriks ekstraseluler terutama kolagen.¹⁶ Dan pada penuaan terjadi peningkatan *Matrix Metalloproteinase* sehingga terjadi ketidak seimbangan pada matriks ekstraseluler dermis.¹⁶

2.2. Matrix Metalloproteinase

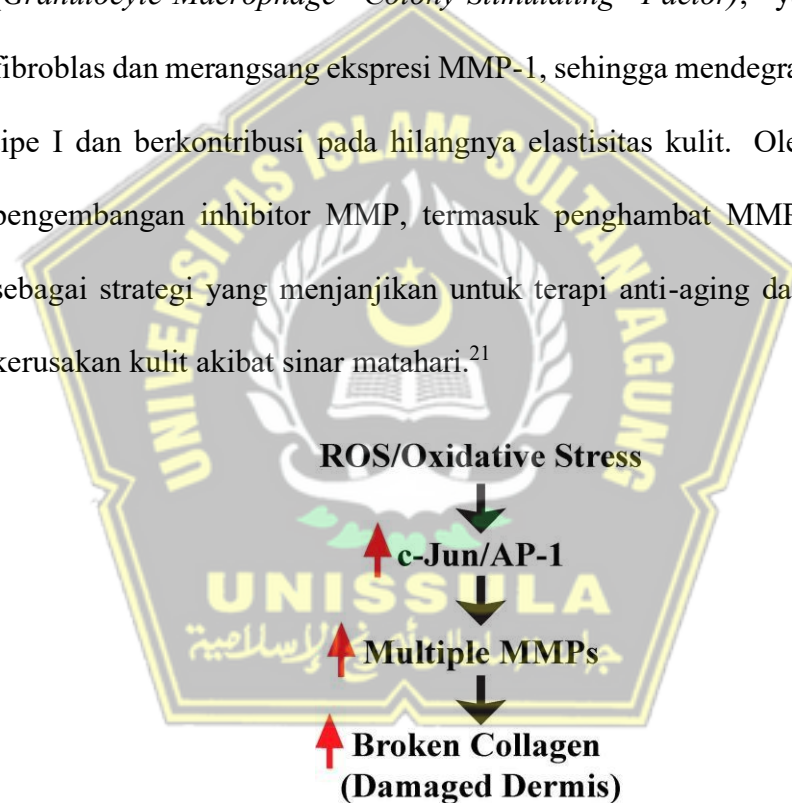
Matriks Metalloproteinase (MMP) memiliki peran penting dalam proses penuaan kulit akibat paparan sinar matahari, terutama MMP-1, yang juga dikenal sebagai Kolagenase interstisial. MMP-1 berperan dalam menguraikan komponen matriks ekstraseluler (ECM).^{18,19} MMP-1 merupakan bagian dari kelompok proteinase yang mengandung zinc serta mampu memecah berbagai protein ECM. Ekspresi MMP-1 dapat dipicu oleh faktor-faktor tertentu, salah satunya adalah paparan sinar ultraviolet B (UVB). Radiasi UVB ini menyebabkan peningkatan produksi MMP-1 dalam

fibroblas kulit manusia sebagai respons terhadap kerusakan, namun juga berkontribusi pada degradasi kolagen, yang mempercepat proses penuaan pada kulit.^{18,20}

MMP-1 disekresikan oleh keratinosit dan fibroblas dermis sebagai respons terhadap berbagai rangsangan, seperti radiasi UV, stres oksidatif, dan sitokin. Enzim ini berperan penting dalam mendegradasi Kolagen tipe I, komponen utama matriks ekstraseluler (ECM) kulit. Sebagai bagian dari kelompok kolagenase, yang juga mencakup MMP-8 dan MMP-13. MMP-1 memiliki peran kunci dalam berbagai proses patologis seperti *photoaging*, penyembuhan luka, inflamasi, dan kanker. Paparan sinar UV memicu produksi spesies oksigen reaktif (ROS), seperti *radikal hidroksil* ($\text{OH}^\cdot$), *anion superoksida* ($\text{O}_2^\cdot$), *hidrogen peroksida* (H_2O_2), dan *oksigen singlet* ($^1\text{O}_2$) di dalam sel. ROS bersifat reaktif secara kimia, menjadi pemicu awal aktivasi MMP akibat radiasi UVB. Kenaikan kadar ROS setelah paparan UVB menyebabkan stres oksidatif seluler, yang mengaktifkan jalur sinyal intraseluler dan faktor transkripsi, termasuk protein aktivator-1 (AP-1) dan faktor nuklir *kappa-light-chain-enhancer* (NF- κ B) dari sel B yang diaktifkan. ROS bertindak sebagai sinyal sekunder untuk mengaktifkan *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK), yang mencakup ERK, K48, dan JNK. Aktivasi MAPK ini mendorong ekspresi c-Fos dan c-Jun, komponen utama dari AP-1. AP-1 kemudian mengikat promotor gen MMP, meningkatkan ekspresi MMP-1, yang memicu degradasi kolagen dan elastin di ECM. Dengan demikian, ROS tidak hanya merusak komponen seluler

melalui stres oksidatif, tetapi juga mempercepat penuaan kulit dengan meningkatkan ekspresi MMP-1, yang mengurangi integritas ECM dan menghambat biosintesis kolagen. Selain itu, stres oksidatif dari UVB juga dapat menyebabkan kerusakan genetik pada sel-sel kulit seperti keratinosit dan melanosit, yang berperan dalam produksi dan transfer pigmen.^{18,21}

Paparan UVB juga menyebabkan keratinosit mengeluarkan GM-CSF (*Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor*), yang memicu fibroblas dan merangsang ekspresi MMP-1, sehingga mendegradasi Kolagen tipe I dan berkontribusi pada hilangnya elastisitas kulit. Oleh karena itu, pengembangan inhibitor MMP, termasuk penghambat MMP-1, dianggap sebagai strategi yang menjanjikan untuk terapi anti-aging dan pencegahan kerusakan kulit akibat sinar matahari.²¹



Gambar 2.2. Stres oksidatif yang dipicu oleh ROS berperan dalam kerusakan dermis melalui induksi berbagai MMP.²²

Radikal bebas (ROS) menyebabkan kerusakan pada dermis kulit dengan cara memicu peningkatan ekspresi berbagai jenis MMP. Peningkatan ROS, yang diakibatkan oleh pengecilan ukuran fibroblas, mengaktifkan faktor transkripsi c-Jun/AP-1, yang pada gilirannya merangsang produksi MMP-1. Proses ini berperan penting dalam mempercepat kerusakan dermis

yang semakin terlihat seiring bertambahnya usia. Aktivitas AP-1 dipengaruhi oleh berbagai rangsangan, termasuk ROS, yang secara signifikan berkontribusi terhadap degradasi struktur kulit dan penuaan.²²

Reactive Oxygen Species (ROS) tidak hanya memicu peningkatan ekspresi MMP-1 melalui jalur transkripsi seperti protein activator-1 (AP-1), tetapi juga dapat merusak komponen seluler, termasuk DNA. Kerusakan DNA ini berperan dalam munculnya berbagai masalah kulit, seperti penuaan yang disebabkan oleh paparan sinar matahari (*photoaging*). Kerusakan DNA akibat radiasi UVB dianggap sebagai salah satu faktor utama yang memicu pelepasan MMP-1, sehingga memahami mekanisme molekuler yang terlibat dalam penuaan kulit sangat penting. Pengetahuan ini dapat digunakan untuk mengembangkan bahan kosmetik yang efektif melindungi kulit dari sinar UV atau memperbaiki kerusakan akibat UVB.^{18,21-23}

2.2.1. Aktivitas MMP-1

MMP-1, atau kolagenase-1, merupakan MMP prototipikal dengan peran utama mendegradasi kolagen tipe I dan III. MMP-1 bertugas *remodeling* jaringan dalam kondisi fisiologis sehingga berperan dalam morfogenesis, angiogenesis, embriogenesis, dan penyembuhan luka. Dalam kondisi fisiologis, MMP-1 diekspresikan secara normal pada ginjal, hepar, usus besar, plasenta, usus halus, lambung, kandung kemih, dan pankreas. Pada kondisi patologis, ekspresi MMP-1 berlebih dapat ditemukan pada kulit, hepar, usus besar, paru-paru, dan tali pusat.^{18,24} Degradasi fibril kolagen

interstitial seperti kolagen tipe I dan III dimediasi terutama oleh MMP-1. Fungsi utama MMP-1 adalah meregulasi pergantian kolagen. Penuaan pada jaringan kulit baik akibat usia maupun paparan sinar UV akan menginduksi *tumor necrosis alpha* (TNF- α) untuk meningkatkan aktivasi MMP-1, sehingga fragmentasi kolagen terjadi semakin cepat.²⁵

2.2.2. Kolagen

Kolagen adalah elemen yang membentuk Extra Cellular Matrix (ECM), yang mempunyai karakteristik fisik yang unik yang berfungsi memberikan kekuatan tegangan, integritas struktural dan pertahanan dari kulit. Kolagen merupakan komponen terbesar dari lapisan dermis, berkontribusi sekitar 70% dari massa kering kulit. Di dalam tubuh manusia, terdapat berbagai jenis molekul Kolagen, Kolagen tipe I dan Kolagen tipe III merupakan penyokong utama kulit. Kolagen kulit terdiri atas dua rantai alfa dasar, alfa-1 dan alfa-2, yang masing-masing terdiri atas lebih dari 1000 residu asam amino, dan rantai-rantai ini membentuk struktur triple helix yang sangat kuat. Biosintesis Kolagen dimulai dari sel fibroblast dan melibatkan proses yang kompleks, termasuk sintesis pre-pro-collagen α di ribosom retikulum endoplasma kasar (RER) dengan vitamin C sebagai kofaktor, yang kemudian diubah menjadi proKolagen dan akhirnya menjadi serat Kolagen yang tidak larut. Kolagen tipe I adalah tipe kolagen terbanyak di kulit yang mempunyai jumlah 80%, sedangkan

kolagen tipe III hanya berjumlah 20%. Kolagen tipe I merupakan molekul heterotrimer yang berisi dua rantai $\alpha 1$ dan satu rantai $\alpha 2$. Kolagen tipe 1 tersusun atas tiga rantai polipeptida dimana setiap rantainya terdiri dari dua rantai $\alpha 1$ dan satu rantai $\alpha 2$ dan mempunyai karakteristik asam amino Gly-X-Y yaitu Glisin-Prolin-Hidroksiprolin. Ketiga rantai polipeptida tersebut akan tersusun membentuk rangkaian triple helix yang dihubungkan satu sama lain dengan ikatan hidrogen seperti yang tampak pada gambar 2.3 berikut ini.

Kolagen memiliki beberapa fungsi penting pada kulit:

- a. Memberikan kekuatan dan struktur pada kulit.

Kolagen adalah elemen utama kulit yang memberikan kekuatan. Di dermis, sekitar 97,5% dari protein berserat adalah Kolagen, yang membantu menjaga struktur dan integritas kulit.

- b. Menjaga elastisitas dan kekenduran kulit.

Kolagen bertanggung jawab untuk menjaga elastisitas dan kekenduran kulit. Pada kulit muda, Kolagen tipe III membantu menjaga kelembutan dan elastisitas kulit, sedangkan Kolagen tipe I yang lebih dominan pada kulit dewasa, memberikan kekuatan pada jaringan.

- c. Menahan air

Kolagen berkontribusi pada kapasitas kulit untuk menahan air, yang penting untuk menjaga hidrasi dan tampilan kulit yang

sehat.

d. Proses penyembuhan

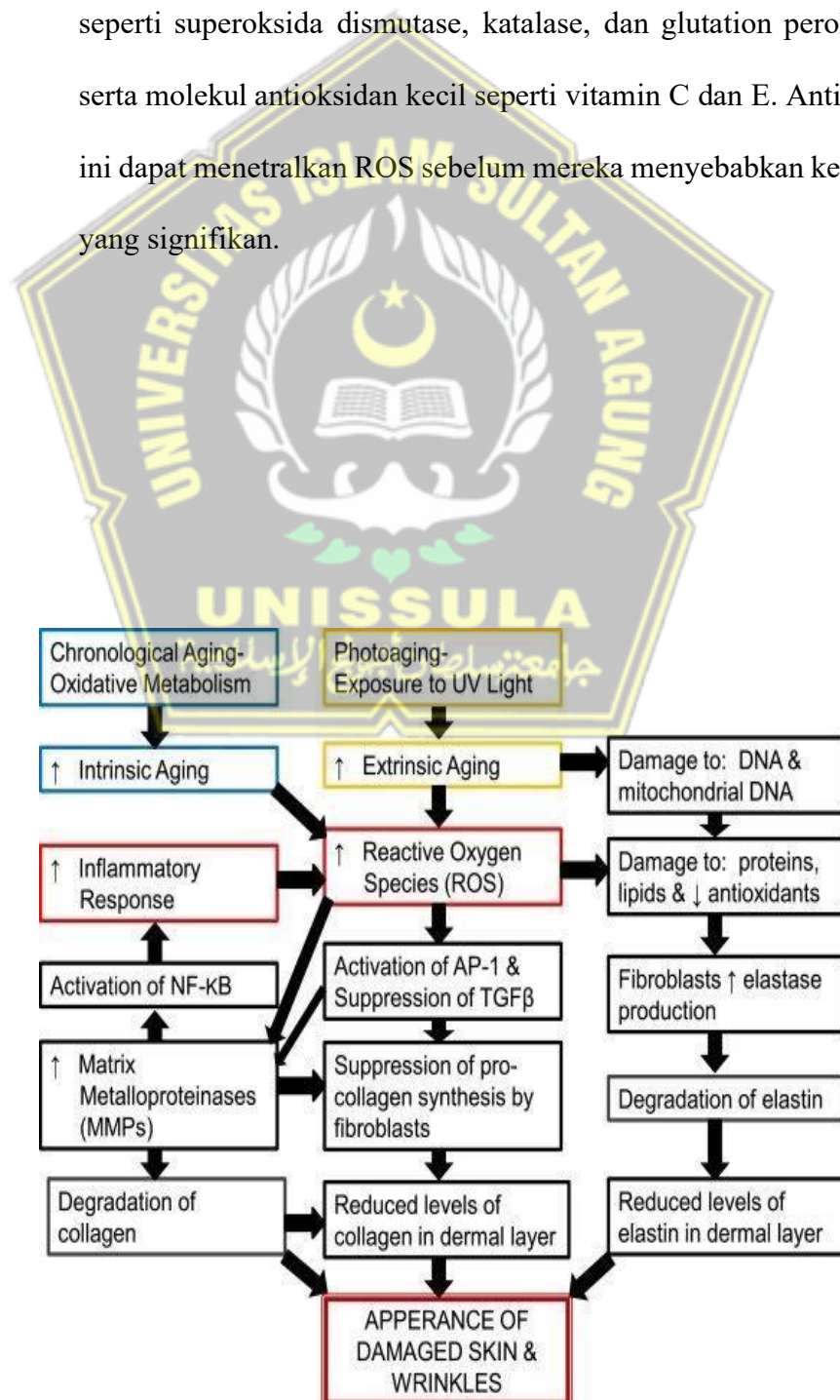
Kolagen juga terlibat dalam proses penyembuhan luka, di mana ia membantu dalam pembentukan jaringan parut baru dan pemulihan integritas kulit.

e. Dukungan mekanis

Kolagen bekerja bersama dengan protein lain seperti elastin dan glikosaminoglikan (GAGs) untuk memberikan dukungan mekanis dan mempertahankan struktur kulit yang sehat.

Kerusakan atau degradasi Kolagen, yang dapat terjadi karena penuaan atau paparan radiasi UV, menyebabkan hilangnya elastisitas dan kekuatan kulit, yang berujung pada pembentukan keriput dan tanda-tanda penuaan lainnya.²⁴ Paparan sinar UVB dari matahari dapat merusak kolagen dalam kulit, yang merupakan salah satu faktor utama yang menyebabkan *photoaging* atau penuaan kulit ekstrinsik. Paparan sinar UVB pada kulit dapat meningkatkan produksi spesies oksigen reaktif (ROS), yang memicu stres oksidatif dan mengaktifkan jalur transduksi sinyal intraseluler. Aktivasi jalur ini menyebabkan peningkatan ekspresi enzim Matriks Metalloproteinase-1 (MMP-1), yang berperan dalam degradasi kolagen, sehingga berkontribusi terhadap kerusakan struktur kulit. Selain itu, aktivasi faktor transkripsi seperti AP-1 yang diinduksi oleh UVB dapat menghambat efek transformasi faktor pertumbuhan- β (TGF- β) yang berperan

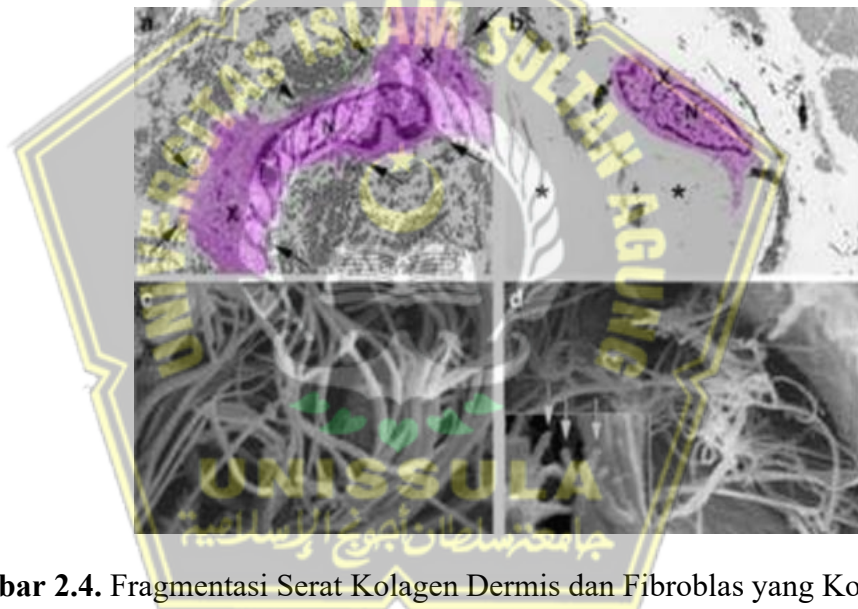
dalam produksi Kolagen, sehingga mengurangi sintesis Kolagen baru. Dampak dari kerusakan kolagen ini termasuk penurunan kekuatan dan elastisitas kulit, yang menyebabkan pembentukan keriput, penipisan kulit, dan perubahan tekstur kulit lainnya yang terkait dengan *photoaging*.²⁶ Untuk melawan efek negatif ROS, tubuh menggunakan sistem pertahanan antioksidan yang meliputi enzim seperti superoksida dismutase, katalase, dan glutathione peroksidase, serta molekul antioksidan kecil seperti vitamin C dan E. Antioksidan ini dapat menetralkan ROS sebelum mereka menyebabkan kerusakan yang signifikan.



Gambar 2.3. *Photoaging* menyebabkan penurunan level kolagen pada dermis.²⁷

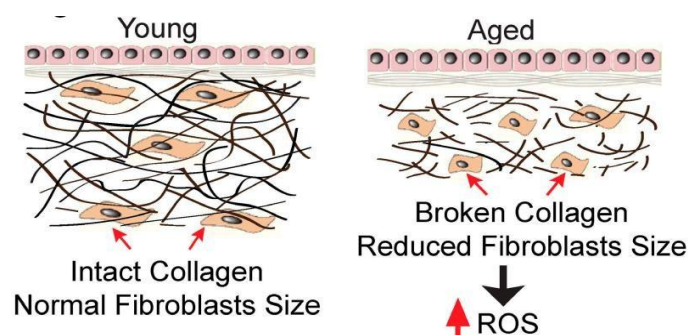
Kolagen dapat terpengaruh oleh kerusakan DNA yang disebabkan oleh berbagai faktor, termasuk paparan sinar ultraviolet (UV), khususnya UVB. Paparan sinar UVB dapat menyebabkan kerusakan langsung pada DNA, termasuk DNA mitokondria (mtDNA) dan DNA inti. Ketika DNA menyerap foton dari UVB, terjadi penyusunan ulang nukleotida yang merusak DNA. Meskipun DNA dapat diperbaiki melalui mekanisme seperti eksisi nukleotida, pada kondisi defisiensi protein atau faktor lain, kerusakan DNA tetap dapat terjadi dan menyebabkan penuaan dini. Kerusakan DNA ini juga berdampak pada fungsi seluler, termasuk pada sel fibroblas di dermis yang bertanggung jawab atas produksi kolagen, dengan adanya gangguan pada perbaikan DNA, terutama pada lansia, respons perbaikan DNA terhadap stres oksidatif akut lebih rendah dibandingkan pada usia muda. Menyebabkan ketidakstabilan kromosom, perkembangan sel terhenti, apoptosis, dan dermatitis kronik yang disebabkan oleh stres oksidatif.²⁷ Selain itu, paparan UVB meningkatkan produksi ROS di lapisan dermis, yang memicu reaksi molekuler berantai sehingga meningkatkan pembentukan AP-1. AP-1 ini menstimulasi proses transkripsi enzim *Matrix Metalloproteinase* (MMP) yang berperan dalam degradasi Kolagen.²⁸

Bertambahnya usia mempengaruhi struktur kolagen yang ada di dermis, dimana kolagen mengalami fragmentasi yang dilakukan oleh enzim protease. Paparan sinar ultraviolet yang terus menerus akan merusak viabilitas sel fibroblast sehingga fibroblas tidak mampu memproduksi kolagen. Selain itu paparan sinar ultraviolet juga menyebabkan peningkatan dari *Matrix Metalloproteinase* yang akan mendegradasi kolagen sehingga serat kolagen terfragmentasi seperti yang terlihat pada gambar 2.4 berikut ini.



Gambar 2.4. Fragmentasi Serat Kolagen Dermis dan Fibroblas yang Kolaps.²⁸

Pemeriksaan histologi dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) dan *toluidine blue* menunjukkan, kulit muda memiliki fiber bundles tebal dengan sedikit rongga antar serat Kolagen, sedangkan di kulit tua rongga serta serat tidak beraturan dan tipis. Gambaran ini menunjukkan degradasi struktur Kolagen yang terjadi seiring bertambahnya usia.²⁹



Gambar 2.5. Perbandingan kolagen muda (kiri) dan kolagen yang telah menua kanan.²⁹



2.3. Sinar Ultraviolet

Sinar UV adalah radiasi non-ionisasi pada spektrum elektromagnetik dengan panjang gelombang antara 100-400 nm. Radiasi sinar ultraviolet terdiri atas tiga tipe yaitu:

1. Ultraviolet A (320-400 nm), merupakan tipe yang menembus lebih dalam sampai ke dermis dan menyebabkan penuaan kulit serta pigmentasi yang berkepanjangan. Sinar UVA memiliki gelombang paling panjang sehingga dapat menembus kulit hingga lapisan dermis. Sinar UVA dapat dibagi menjadi UVA I (320-400 nm) dan UVA II (320-340 nm). Sinar UVA memancar sepanjang hari dari pagi hingga sore.²⁴
2. Ultraviolet B (290-320 nm) yang dapat menembus sampai lapisan epidermis dan bertanggung jawab atas terjadinya eritema akibat terbakar sinar matahari dan mutasi di keratinosit. Sinar UVB hanya menjangkau lapisan epidermis saja, namun memiliki intensitas lebih tinggi dibandingkan UVA terutama pada siang hari.²⁴
3. Ultraviolet C (100-290 nm) yang sebagian besar dihambat oleh lapisan ozon, sehingga efek di kulit cukup kecil.²⁴

Sinar matahari merupakan sumber utama sinar UV. Spektrum dan intensitas radiasi UV yang luas disebabkan oleh suhu tinggi permukaan matahari. Ketika sinar matahari mencapai atmosfer bumi, maka sinar UV akan diabsorpsi oleh lapisan ozon dan menyebar. Lapisan ozon mampu mencegah sinar UV dengan panjang gelombang <290 nm, sehingga bumi

hanya terpapar radiasi UV dengan panjang gelombang 290- 400 nm. Oleh karena itu, sinar UVC tidak perlu diwaspadai karena dapat dihalangi oleh sinar ozon dan tidak mencapai permukaan bumi, sehingga proteksi dari sinar UV hanya mencakup UVA dan UVB.³⁰

Sinar UV yang mencapai permukaan bumi terdiri dari sinar UV-A sebesar 95% dan sisanya adalah sinar UV-B sebesar 5%. Sinar UV-A menembus permukaan kulit sampai ke lapisan epidermis dan dermis, sedangkan sinar UV-B merupakan sinar yang aktif secara biologis, sinar ini menembus bagian permukaan kulit lalu ke lapisan basalis epidermis kemudian mengaktifkan ROS dan senyawa nitrogen Reactive Nitrogen Species (RNS) sehingga mempercepat terjadinya penuaan kulit.³¹

Sinar UV-B berpotensi 1000 kali lebih kuat daripada sinar UV-A dan bertanggung jawab pada kondisi luka bakar akibat sinar matahari, *suntanning*, dan fotokarsinogenesis setelah terjadi paparan sinar matahari. Puncak intensitas Sinar UV- B terjadi antara pukul 10.00-16.00. Sinar UV-B menjadi faktor utama kerusakan DNA secara langsung dan mencetuskan inflamasi, imunosupresi, angiogenesis kutaneus, dan merangsang degradasi kolagen dan elastin.³¹

Dampak biologis sinar UV bergantung pada panjang gelombang radiasi. Salah satu manfaat sinar UV adalah sebagai terapi defisiensi vitamin D, *seasonal affective disorder*, psoriasis, sarkoidosis, mikosis fungoides, dan berbagai kondisi kulit lainnya. Sinar UVB dapat membantu proses konversi 7-dehidrokolestrol menjadi vitamin D yang aktif (kolekalsiferol). Akan

tetapi, paparan sinar matahari kronis dapat menimbulkan penuaan kulit, menurunkan respons imun terhadap patogen, dan meningkatkan risiko, pembentukan neoplasma. Pada tingkat molekular, radiasi UV membentuk pirimidine dimer kovalen. Apabila pada proses perbaikan *deoxyribonucleic acid* (DNA) tidak dapat mengena dimer, maka terjadi mutasi yang tidak dapat diperbaiki dalam siklus sel. Mutasi gen yang mencapai siklus sel dan tidak diperbaiki oleh jalur p53 akan menimbulkan transformasi maligna.³¹

2.3.1. *Photoaging* Akibat Paparan UVB

Photoaging adalah proses penuaan kulit yang dipercepat akibat paparan sinar ultraviolet (UV), terutama sinar UVB, dari matahari.³²

Photoaging ditandai dengan sejumlah perubahan pada kulit, seperti:

a. Kerusakan Kolagen

Paparan sinar UVB meningkatkan produksi radikal bebas dan aktivitas Matriks Metalloproteinase (MMP), enzim yang mendegradasi Kolagen dan elastin, menyebabkan penurunan Kolagen dan elastin yang memberikan kekuatan dan elastisitas pada kulit.

b. Kerusakan DNA

UVB dapat menyebabkan kerusakan langsung pada DNA sel, termasuk DNA mitokondria dan DNA inti, yang dapat mengganggu fungsi sel dan proses penyembuhan. Paparan UVB pada kulit dapat menyebabkan berbagai efek negatif termasuk kerusakan DNA keratinosit yang memicu pelepasan mediator

respons inflamasi seperti sitokin IL-1 α , IL-6, dan TNF- α .²⁰

c. Peningkatan radikal bebas,

Paparan UVB dapat meningkatkan produksi radikal bebas yang menyebabkan stres oksidatif dan meningkatnya status inflamasi yang berujung pada kerusakan sel.²⁰

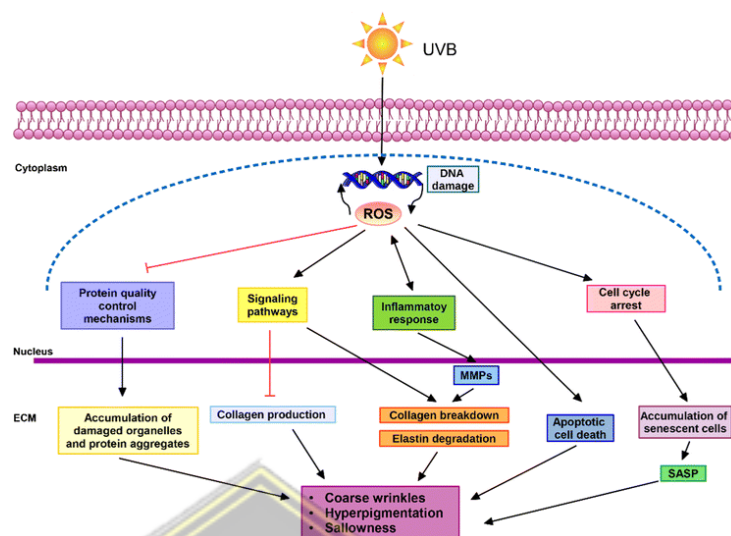
d. Perubahan pigmentasi,

Photoaging seringkali menyebabkan perubahan pigmentasi seperti *lentigo solaris* peningkatan risiko terjadinya *actinic keratosis*.²⁰

e. Kerutan dan tekstur kulit,

Kulit menjadi lebih tipis, kehilangan kekenduran, dan munculnya kerutan halus serta elastosis aktinik.²⁰

Photoaging merupakan bagian dari penuaan kulit, tergolong dalam penuaan ekstrinsik. Paparan sinar UV baik UVA maupun UVB merupakan penyebab utama terjadinya *photoaging*.¹⁸ UVB adalah komponen dari sinar ultraviolet yang mencapai permukaan bumi, yang terdiri dari panjang gelombang 280 hingga 320 nanometer. UVB tidak menembus atmosfer bumi sebanyak UVA dan sebagian besar diserap oleh lapisan ozon. UVB yang mencapai permukaan bumi memiliki energi yang lebih tinggi dibandingkan UVA dan dapat menyebabkan kerusakan langsung pada DNA sel kulit, menyebabkan peradangan, dan berkontribusi pada proses penuaan kulit serta peningkatan risiko kanker kulit (Gambar 2.6).³²



Gambar 2.6. Mekanisme UVB menginduksi skin aging.³³

Paparan sinar UVB akan memicu terjadinya kerusakan DNA dan pembentukan Spesies Oksigen Reaktif (ROS). Hal ini akan mengakibatkan *photoaging* melalui aktivasi jalur pensinyalan dari inflamasi dan modulasi komponen remodeling matriks ekstraseluler (ECM) yaitu Protein, Kolagen dan *Matriks Metalloproteinase* (MMP). Peningkatan MMP yang dipicu sinar UVB kemudian menyebabkan degradasi ECM dan penurunan produksi Kolagen. Peningkatan aktifitas enzim seperti Kolagenase, Elastase dan Hyaluronidase dipicu oleh tingginya *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dihasilkan saat kulit terpapar sinar Ultraviolet (UV).¹⁸

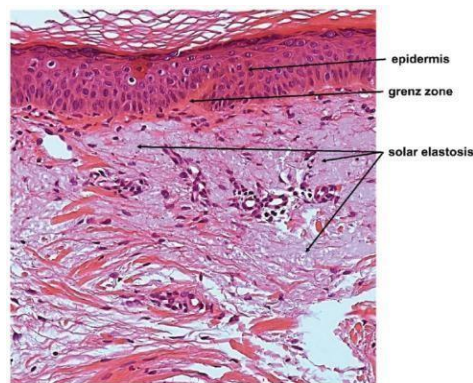
Paparan UVB dapat menyebabkan hiperpigmentasi dengan merangsang produksi melanin, pigmen yang memberikan warna pada kulit. Ketika kulit terpapar UVB, sel melanosit di epidermis diaktifkan untuk memproduksi dan mendistribusikan melanin sebagai respons terhadap kerusakan DNA yang disebabkan oleh radiasi UV.³⁴

Melanin bertindak sebagai pelindung alami dengan menyerap dan menyebarluaskan energi UV, sehingga mengurangi risiko kerusakan lebih lanjut pada DNA sel kulit. Hiperpigmentasi yang dihasilkan dapat berupa peningkatan warna yang seragam atau bercak-bercak gelap pada kulit, yang sering disebut sebagai bintik-bintik penuaan atau *lentigo solaris*. Kulit yang gelap lebih tahanterhadap kerusakan kulit akibat paparan sinar UV, sehingga manifestasipenuaan kulit lebih ringan dan terjadi lebih lambat 10 hingga 20 tahun dibandingkan dengan kulit yang lebih terang. Pada kulit dengan tipe Fitzpatrick III dan IV, dispigmentasi atau perubahan pigmen kulit merupakan gambaran utama dari fotoaging. Klasifikasi *photoaging* pertama kali dilakukan oleh Glogau pada tahun 1996. Berdasarkan klasifikasi dari Glogau, terdapat 4 tipe *photoaging* mulai dari tipe I hingga tipe IV. Glogau tipe I (mild) yakni *photoaging* fase awal dimana biasanya terjadi pada usia 20 hingga 30 tahun dan tidak ditemukan adanya keriput (*wrinkle*). Pada Glogau tipe II (moderate) sudah mulai ditemukan adanya tanda-tanda *photoaging* yakni keriput pada gerakan ekspresi wajah. Biasanya Glogau tipe II ini ditemukan pada usia 30 hingga 40 tahun. Glogau tipe III (*advanced*) menunjukkan adanya *photoaging* lebih lanjut, biasanya ditemukan pada usia 50 tahun, ditandai dengan adanya keriput pada saat istirahat (*resting wrinkle*). Gambaran *photoaging* yang berat digolongkan pada Glogau tipe IV (*severe*) yang biasanya ditemukan pada usia 60 tahun

dan ditandai dengan banyaknya kerutan.³⁰

Pekerja lapangan seperti petani dan nelayan, yang sering terpapar sinar matahari, memiliki risiko yang lebih tinggi untuk mengalami *photoaging* dibandingkan dengan pekerja kantoran. Area kulit yang sering terpapar sinar UV, seperti wajah, leher, dada bagian atas, tangan, dan lengan bagian bawah, adalah area predileksi terjadinya *photoaging*.³⁰

Perubahan histopatologi kulit pada *photoaging*, epidermis dapat mengalami hiperplasia maupun atrofi. Pada *photoaging* lapisan dermis mengalami perubahan seperti hilangnya papila dermis, penebalan membran basal, peningkatan jumlah dan distribusi melanosit serta melanosom yang tidak teratur, *keratinosit atipikal*, *solar elastosis*, fibroblas kusut dan hiperplastik, perubahan bentuk serat Kolagen, penurunan jumlah Kolagen, pelebaran mikrovaskuler dan infiltrasi sel inflamasi yang berlimpah. *Solar elastosis* merupakan degenerasi basofilik dari serat elastotik dalam dermis. *Solar elastosis* dipisahkan dari epidermis oleh lapisan serabut Kolagen yang tampak normal (*zona grenz*) dengan serat Kolagen yang tersusun horizontal.¹⁸



Gambar 2.7. Gambaran histologi kulit yang mengalami *photoaging*.¹⁸

2.3.2. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu molekul yang pada lapisan elektron terluarnya tidak mempunyai elektron berpasangan. Akibatnya radikal bebas akan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul atau senyawa lain di sekitarnya. Apabila radikal bebas mengambil elektron dari protein, lemak, asam nukleat dari suatu sel maka komponen protein, lemak dan asam nukleat dari sel tersebut akan berubah dan fungsi sel tersebut akan terganggu.³⁵

Ketidakseimbangan antara jumlah antioksidan dan senyawa radikal bebas akan mengakibatkan kerusakan stres oksidatif. Pada saat keadaan inilah kerusakan tubuh terjadi oleh radikal bebas. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan bersifat reaktif. Suatu atom atau molekul akan tetap stabil bila elektronnya berpasangan, untuk mencapai kondisi stabil tersebut, radikal bebas dapat menyerang bagian tubuh seperti sel, sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada sel tersebut dan berimbas pada

kinerja sel, jaringan dan akhirnya pada proses metabolisme tubuh. ROS terdiri dari anion superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan hidroksil (OH). *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dihasilkan oleh mitokondria khususnya radikal hidroksil (OH). Apabila produksi ROS berlebih maka akan terjadi stres oksidatif sehingga dapat menstimulasi *cytochrome c* dan faktor *trigger* apoptosis yang lain di mitokondria sehingga menyebabkan kematian sel.²¹

2.3.3. Radikal Bebas Akibat Paparan UVB

Paparan UVB dapat menyebabkan pembentukan radikal bebas dalam kulit. Paparan UV (UVB) menghasilkan radikal bebas oksidatif. Foton UV berinteraksi dengan oksigen atom untuk mendorong pembentukan turunan radikal bebas seperti superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), Oksigen singlet (1O_2) dan radikal hidroksil (OH) yang sangat reaktif. Radikal bebas menyerang makromolekul seperti protein, lipid, RNA dan DNA, mengubah strukturnya dan mengganggu fungsinya. Radikal bebas dapat menyebabkan peroksidasi lipid yang mengganggu integritas membran dan berpotensi menyebabkan kematian sel. Radikal bebas menyebabkan kerusakan oksidatif pada DNA, yang merupakan salahsatu mekanisme utama di balik efek mutagenik dan karsinogenik dari paparan UVB. Enzim detoksifikasi dan proteksi seperti *superoksida dismutase*, *katalase* dan *glutathione peroksidase*

mendetoksifikasi dan mengurangi level stres oksidatif di tingkat sel.³⁶

2.3.4. *Reactive Oxygen Species (ROS)*

ROS adalah senyawa oksigen reaktif yang merupakan produk sekunder metabolisme aerobik. Pembentukan ROS terutama terjadi di dalam mitokondria. Selain mitokondria, ROS di dalam tubuh dapat berasal dari reaksi enzimatik yang dikatalisis oleh oksidase dan oksigenase, reaksi radang (infeksi bakteri dan fagositosis), paparan sinar UV, asap rokok, dan lain-lain. Dampak ROS pada penuaan kulit dapat terjadi melalui proses oksidasi seluler, aktivasi mitogen-activated pathway (MAP) kinase, aktivasi nuclear factor kappa B (NF- κ B) yang mempengaruhi aktivitas MMP-1 sehingga terjadi degradasi serat kolagen. Kerusakan akibat ROS bergantung pada sifat masing-masing molekul. O₂ bersifat sangat reaktif dan tidak mudah berdifusi ke luar sel, sehingga kerusakan yang diakibatkan oleh molekul ini bersifat lokal. Molekul H₂O₂ mudah larut dalam lemak, sehingga dapat berdifusi ke luar sel dan mengakibatkan kerusakan yang jauh dari tempat produksinya. Molekul OH $\cdot$ memiliki waktu paruh yang sangat singkat dan bereaksi hampir dengan seluruh komponen di sekitarnya, misalnya mtDNA, lipid, dan protein.³⁷

Reactive oxygen species (ROS) merupakan molekul yang reaktif secara kimia yang mengandung oksigen, seperti *Superoxide anion* (O₂⁻), *Hydrogen peroxide* (H₂O₂) dan *Hydrogen radical* (OH $\cdot$). ROS memiliki peranan yang sangat penting, bukan hanya dalam transduksi

sinyal fisiologi, tapi juga dalam petogenesis termasuk kanker, penuaan dan penyakit degeneratif lainnya. DNA mitokondria mengkode protein yang merupakan komponen penting dari *pathway* pembentukan energi dalam mitokondria, yaitu *oxidative phosphorylation* (OXPHOS) yang menghasilkan ROS sebagai *by-product*, produksi *Adenosine-5'-triphosphate* (ATP) melalui rantai pernafasan mitokondria dan juga menginisiasi kematian sel. Karena peran tersebut, mitokondria disebut sebagai "*power house*" bagi sel. Disamping dihasilkan secara tetap pada makhluk hidup sebagai produk sampingan dari metabolisme sel, ROS juga dihasilkan sebagai konsekuensi dari iradiasi, obat-obatan kemoterapi dan paparan lingkungan terhadap oksidan kimia dan logam transisi. Pada kadar normal, ROS bekerja sebagai *redox messenger* yang terlibat dalam beberapa regulasi dan *pathway* sinyal transduksi intra sel. Peningkatan ROS pada level sedang terjadinya proliferasi sel. Pada konsentrasi yang tinggi atau jumlah yang berlebihan, ROS bertindak sebagai stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan oksidatif pada lemak, protein dan DNA, memicu transformasi onkogenik, meningkatkan aktifitas metabolik dan disfungsi mitokondria.³⁷

2.4. Krim

Krim adalah bentuk sediaan setengah padat mengandung satu atau

lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai.³⁸ Istilah ini digunakan untuk sediaan setengah padat yang mempunyai konsistensi relatif cair diformulasikan sebagai emulsi air dalam minyak atau minyak dalam air. Penggunaan krim indikasinya adalah dermatosis subakut dan luas, kosmetik, penetrasi yang lebih besar dan dapat digunakan pada daerah berambut. Penggunaan krim mempunyai keuntungan yaitu mudah dibersihkan dan dicuci, praktis, cara kerja yang dapat langsung pada jaringan setempat, tidak lengket terutama tipe M/A, bahan pada pemakaian topikal pada jumlah absorpsinya tidak beracun, untuk kosmetik.³⁸

2.5. Retinol

Retinol merupakan bahan aktif yang terkenal dalam perawatan kulit. Retinol, yang sering dianggap sebagai standar emas dalam anti-penuaan, terbukti efektif dalam memperlambat dan mengurangi tanda-tanda penuaan kulit, termasuk penipisan kulit serta munculnya garis-garis halus dan kerutan.³⁹ Sebagai turunan vitamin A, retinol dianggap sebagai retinoid paling sederhana dan terlemah, namun sering memainkan peran krusial dalam berbagai proses fisiologis, terutama yang berkaitan dengan kesehatan kulit.^{4,39} Retinol berfungsi sebagai regulator alami aktivitas sel, yang mencakup pertumbuhan dan diferensiasi sel, sehingga memainkan peran krusial dalam mempertahankan kesehatan kulit serta mengatur proliferasi keratinosit dan diferensiasi epidermis.⁴ Melalui pengikatan pada reseptor di kulit, retinol merangsang sintesis kolagen dan meningkatkan kemampuan kulit dalam mempertahankan kelembapan, yang pada akhirnya berkontribusi

dalam meningkatkan ketebalan kulit serta memperbaiki penampilan garis-garis halus dan kerutan.³⁹

Retinol, setelah diubah menjadi asam retinoat dalam sel, bekerja dengan mengaktifkan reseptor nuklir RAR/RXR yang menghambat aktivitas faktor transkripsi AP-1, yaitu kompleks protein yang menginduksi ekspresi MMP-1. MMP-1 adalah enzim yang bertanggung jawab terhadap degradasi kolagen di kulit, terutama setelah paparan sinar UVB yang meningkatkan stres oksidatif dan mengaktifkan jalur MAPK. Dengan menekan AP-1 dan meningkatkan ekspresi TIMP (inhibitor MMP), retinol secara efektif mengurangi produksi MMP-1, sehingga membantu mencegah kerusakan kolagen dan memperlambat proses penuaan kulit.³⁹

Retinol topikal seperti tretinoin dan adapalene, efektif dalam mengobati jerawat dengan mengelupas lapisan luar kulit, membantu membuka pori-pori dan mengurangi pembentukan lesi jerawat. Meskipun bermanfaat, retinol dapat menyebabkan efek samping seperti iritasi kulit dan peningkatan sensitivitas terhadap sinar matahari. Oleh karena itu, penting untuk menggunakan produk retinol sesuai petunjuk dan mempertimbangkan langkah-langkah pencegahan, terutama bagi individu dengan kulit sensitif dan menggunakannya dengan benar. Penggunaan awal dapat menyebabkan iritasi kulit, seperti kemerahan dan pengelupasan, yang biasanya mereda setelah beberapa minggu. Dianjurkan untuk memulai dengan konsentrasi yang lebih rendah dan secara bertahap meningkatkan penggunaan saat kulit menyesuaikan diri.^{4,39}

2.6. Daun Bidara

Tanaman Bidara, secara ilmiah dikenal sebagai *Ziziphus mauritiana*, dikenal karena berbagai nama lokalnya di berbagai wilayah di Indonesia yaitu Widara (Sunda), widoro,doro (jawa) bukol (Madura), Rangga (Bima), Kalangga (Sumba), Bekul (Bali), dan Klom (Kupang).^{9,13}



Bidara merupakan tanaman yang dapat bertahan hidup di lingkungan yang cukup kering, juga dapat tumbuh pada tanah yang bersifat basa maupun asam.⁸ Tanaman bidara tingginya rata-rata mencapai 1,5 m, tumbuh tegak dan mempunyai cabang yang menjuntai, termasuk tanaman berduri, memiliki daun yang selalu berwarna hijau atau semi kering, bidara juga merupakan tanaman lengkap yang memiliki bunga, buah, daun, batang dan akar.^{8,13} Pohon bidara berdaun lebat atau setengah meranggas. Daun bidara tunggal, berbentuk bundar telur-jorong sampai bundar-telur-lonjong, berukuran panjang 2,5-6 cm dan lebar 1,5-5 cm, letak daun bidara berselang-seling.^{11,14} Permukaan atas daun bidara berwarna hijau mengkilap, tidak berambut, tepinya sedikit bergerigi, bagian bawah daun bidara tertutup oleh rambut

yang berwarna keputihan sampai kecoklatan (warna karat), memiliki tiga tulang daun membujur dengan panjang tangkai daun 8-15mm.^{14,15}

Klasifikasi tumbuhan bidara adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Super divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Rhamnales</i>
Famili	: <i>Rhamnaceae</i>
Genus	: <i>Ziziphus</i>
Spesies	: <i>Ziziphus mauritiana</i> L.

2.6.1. Kandungan Daun Bidara

Daun Bidara telah diketahui memiliki beberapa aktivitas, diantaranya adalah aktivitas hepatoprotektif, antidiabetes, imunomodulator dan antioksidan. Selain itu terdapat penelitian yang melaporkan bahwa ekstrak etanol daun *Ziziphus mauritiana* memiliki aktivitas *adaptogenic*.^{8,13} Rata-rata kadar senyawa metabolit sekunder yang terdapa dalam dalam ekstrak daun bidara diantaranya flavonoid menghasilkan kadar sebanyak 3,030%, alkaloid menghasilkan kadar sebanyak 23,537%, saponin menghasilkan kadar sebanyak 5,5307, tanin menghasilkan kadar sebanyak 0,0933% dan

steroid menghasilkan kadar sebanyak 3,494%.⁴⁰

2.6.1.1. Flavonoid

Flavonoid adalah kelas senyawa signifikan yang ditemukan di daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*), berkontribusi pada manfaat kesehatannya. Flavonoid yang ada dalam daun bidara menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat.¹⁵ Ekstrak etanol daun memiliki kemampuan kuat untuk menetralkan radikal bebas.¹⁵ Flavonoid yang ditemukan dalam daun bidara tidak hanya berkontribusi pada sifat antioksidan tetapi juga menyoroti potensi sebagai anti-inflamasi, antimikroba, dan sifat anti-kanker potensial, serta pelembabkan, dan anti-penuaan.^{8,11,15} Flavonoid yang ada dalam daun bidara menunjukkan sifat anti-inflamasi. Mereka dapat membantu mengurangi peradangan dalam tubuh, yang bermanfaat untuk kondisi seperti radang sendi dan penyakit inflamasi lainnya.¹¹ Flavonoid telah terbukti memiliki sifat antimikroba, membuatnya efektif melawan berbagai patogen. Dalam konteks daun bidara, flavonoid berkontribusi pada kemampuan tanaman untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur, meningkatkan penggunaannya dalam pengobatan tradisional untuk mengobati infeksi.¹¹

Flavonoid terbentuk pada tumbuhan dari asam amino

aromatik fenilalanin, tirosin dan malonat. Dalam tumbuhan, aglikon flavonoid (flavonoid tanpa gula terikat) terdapat dalam berbagai bentuk struktur. Semuanya mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆ yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Flavonoid dalam tumbuhan jarang ditemukan dalam bentuk tunggal tetapi dalam bentuk campuran. Flavonoid merupakan golongan senyawa yang larut dalam air. Flavonoid dalam tumbuhan terikat sebagai glikosida dan aglikon. Analisis flavonoid lebih baik dengan memeriksa aglikon. Penggolongan jenis flavonoid dalam jaringan tumbuhan mula-mula didasarkan pada telaah sifat kelarutan dan reaksi warna. Golongan flavonoid, yaitu antosianin, proantosianin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonil, kalkon, auron, flavanon, dan isoflavon. Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum UV dan spektrum tampak. Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang dapat menghambat banyak reaksi oksidasi. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena mampu mentransfer sebuah elektron kepada senyawa radikal bebas, dimana R• merupakan

senyawa radikal bebas, Fl-OH merupakan senyawa flavonoid sedangkan Fl-OH• merupakan radikal flavonoid.⁴¹ Reaksi peredaman radikal bebas oleh senyawa flavonoid seperti dalam gambar berikut:

Dalam konteks kesehatan kulit, flavonoid memiliki afinitas tinggi untuk serat kolagen dan elastin, yang dapat meningkatkan efek pelembabkan pada kulit. Properti ini sangat bermanfaat untuk peremajaan kulit dan menjaga elastisitas kulit.⁸ Flavonoid juga dapat memainkan peran dalam anti-penuaan dengan meningkatkan elastisitas dan hidrasi kulit, yang sangat penting untuk menjaga kulit awet muda. Sifat antioksidan mereka membantu melindungi kulit dari kerusakan yang disebabkan oleh faktor lingkungan seperti radiasi UV.⁸

2.6.1.2. Saponin

Daun bidara diketahui mengandung saponin, yaitu glikosida yang dapat menghasilkan busa bila dicampur dengan air, karena kemampuannya untuk membuat busa yang stabil ketika dicampur dengan air.^{8,9} Kehadiran saponin dalam daun Bidara meningkatkan sifat anti-inflamasi yang dapat bermanfaat dalam produk perawatan kulit yang bertujuan mengurangi kemerahan dan iritasi. dikenal karena berbagai manfaat kesehatannya, termasuk sifat antimikroba,

dan antioksidan.¹³ Saponin juga berpotensi sebagai anti mikroba dengan menghambat pertumbuhan berbagai mikroorganisme, termasuk bakteri dan jamur.^{10,13} Saponin juga juga memiliki sifat antikanker, berpotensi menghambat pertumbuhan sel kanker.¹³

2.6.1.3. Alkaloid

Alkaloid yang terkandung dalam daun Bidara berperan penting dalam efek farmakologisnya, yang mencakup aktivitas antimikroba, potensi sebagai antidiabetes, sifat antioksidan, serta kemungkinan manfaat untuk kesehatan kognitif.¹⁰ Beberapa alkaloid menunjukkan sifat antimikroba, membantu menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur. Ini sangat bermanfaat untuk mencegah infeksi dan meningkatkan kesehatan secara keseluruhan.¹⁰

Penelitian menunjukkan bahwa alkaloid pada daun bidara memiliki aktivitas antimikroba yang signifikan. Mereka dapat mengganggu integritas dinding sel bakteri, yang menyebabkan kematian sel. Properti ini sangat berguna dalam memerangi infeksi yang disebabkan oleh berbagai patogen.¹¹ Alkaloid pada daun Bidara mungkin berperan dalam mengelola diabetes. Mereka dapat membantu mengatur kadar gula darah dan meningkatkan sensitivitas insulin, menjadikannya berharga bagi penderita diabetes.¹⁰

Alkaloid juga berkontribusi pada kapasitas antioksidan daun Bidara. Mereka membantu menetralkan radikal bebas dalam tubuh, mengurangi stres oksidatif dan berpotensi menurunkan risiko penyakit kronis.¹⁰

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa alkaloid tertentu mungkin memiliki efek neuroprotektif, yang dapat mendukung fungsi kognitif dan melindungi terhadap penyakit neurodegeneratif.¹⁰ Selain itu Alkaloid dikenal karena efek terapeutiknya yang beragam, termasuk analgesik (penghilang rasa sakit), Alkaloid dapat mengarahkan efeknya dengan berinteraksi dengan sistem biologis, seringkali dengan mengikat reseptor tertentu dalam tubuh. Interaksi ini dapat menyebabkan berbagai respons fisiologis, seperti penghilang rasa sakit.¹¹

2.6.1.4. Tanin

Tanin adalah senyawa polifenolik yang ditemukan di berbagai tanaman, termasuk Bidara (*Ziziphus mauritiana*).⁸

Tanin dalam daun Bidara berkontribusi positif bagi kesehatan kulit melalui sifat antioksidan, astringen, dan anti-inflamasi.^{8,13} Tanin dikenal karena aktivitas antioksidannya yang kuat, yang membantu menetralkan radikal bebas. Properti ini bermanfaat untuk kesehatan kulit, karena dapat melindungi terhadap stres oksidatif dan berkontribusi

terhadap efek anti-penuaan.^{8,13} Tanin memiliki sifat astringen, yang dapat membantu mengencangkan dan mengencangkan kulit. Ini bisa sangat berguna dalam formulasi perawatan kulit yang bertujuan mengurangi penampilan pori-pori dan meningkatkan tekstur kulit.^{8,13} Sifat anti- inflamasi tanin dapat membantu menenangkan kulit yang teriritasi dan mengurangi kemerahan. Ini membuatnya berharga dalam formulasi yang dirancang untuk kulit sensitif atau meradang.^{8,13} Tanin dapat meningkatkan penyembuhan luka dengan meningkatkan proses perbaikan alami kulit. Kemampuan mereka untuk membentuk penghalang pelindung juga dapat membantu mencegah infeksi.⁸

2.7. Hewan Coba Tikus (*Ratus Novergicus*)

Tikus putih merupakan hewan coba yang umum digunakan. Terdapat tiga macam galur tikus putih yang digunakan sebagai hewan uji coba, yaitu *Sprague Dawley*, *Long Evans*, dan *Wistar*.⁴²



Gambar 2.8. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar.⁴³

Tikus wistar (*Rattus norvegicus*) banyak digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian ilmiah karena ketersediaannya, respons cepat, dan relevansinya dengan kesehatan manusia, menjadikannya pilihan yang disukai untuk banyak studi eksperimental.⁴⁴ Tikus wistar termasuk hewan nokturnal dan sosial. Salah satu faktor yang mendukung kelangsungan hidup *Rattus norvegicus* dengan baik ditinjau dari segi lingkungan adalah temperatur dan kelembaban. temperatur yang baik untuk *Rattus norvegicus*, yaitu 19°C-23°C, sedangkan kelembaban 40-70%.⁴⁵ *Rattus norvegicus* strain wistar memiliki karakteristik morfologi yaitu memiliki kepala yang lebar, telinga yang panjang, ekor yang panjangnya proposional dengan tubuhnya (panjangnya kurang dari panjang tubuh). *Rattus norvegicus* memiliki usia reproduksi pada 7-10 minggu dengan berat badan 100-227 g, dan lama kehamilan 19-22 hari.^{42,44}

Taksonomi Tikus *Rattus norvegicus*.^{44,45}

Kingdom : *Animalia*

Filum : *Chordata*

Class : *Mammalia*

Ordo : *Rodentia*

Family : *Muridae*

Subfamili : *Murinae*

Genus : *Rattus*

Spesies : *Rattus norvegicus*

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

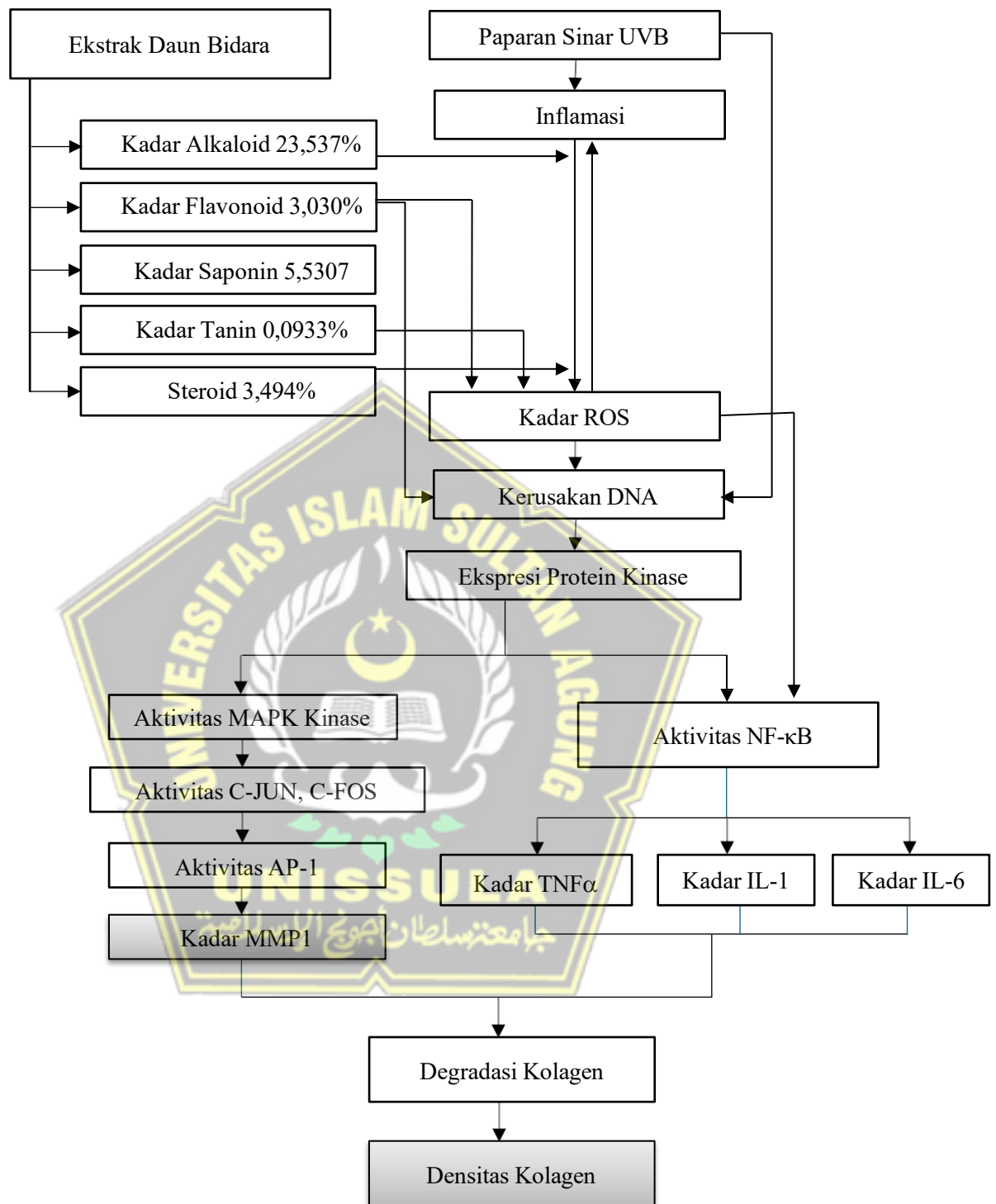
3.1. Kerangka Teori

Paparan sinar ultraviolet (UV) yang berlebihan dapat menimbulkan sunburn, yang memicu peningkatan produksi radikal bebas dan *reactive oxygen species* (ROS).^{1,2,5} Paparan sinar matahari memicu berbagai perubahan molekuler dan seluler pada kulit, seperti kerusakan DNA, peningkatan stres oksidatif, reaksi peradangan, serta modifikasi aktivitas sel imun. Perubahan-perubahan ini secara keseluruhan berperan dalam proses penuaan kulit dan munculnya gangguan kulit yang berhubungan.^{1,2} Kerusakan kulit karena paparan sinar UV disebabkan oleh peningkatan ROS dan berbagai faktor inflamasi.² Radiasi sinar UV-B dapat menembus epidermis dan dapat menginduksi kerusakan DNA pada sel-sel kulit dengan meningkatkan konsentrasi *reactive oxygen species* (ROS).^{1,2,5} Kelainan kulit yang diakibatkan oleh radiasi sinar UV bermula dari pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) dan sintesis MIMP-1 oleh fibroblas dermis yang berperan pada penuaan kulit.^{1,2,5} Sinar UV menginduksi radikal ROS untuk berperan sebagai perantara sekunder untuk mengaktivasi famili MAPK yang berujung pada kerusakan genetik persisten, ditandai dengan peningkatan ekspresi AP-1 dan MMP.^{1,2,5} Radiasi UV juga mampu menurunkan ekspresi inhibitor MMP, yaitu TIMPs, yang mengakibatkan peningkatan degradasi kolagen serta berhubungan dengan kerusakan jaringan dan respon peradangan.^{1,2,5}

Paparan sinar UVB memberikan efek signifikan pada kulit, termasuk peningkatan spesies oksigen reaktif (ROS), kerusakan DNA, dan peningkatan proses inflamasi. Kerusakan akibat paparan UVB pada DNA mitokondria (mtDNA) dan DNA inti mengarah pada mutasi serta gangguan regulasi dan ekspresi gen, yang mempengaruhi fungsi seluler, terutama pada fibroblas yang bertanggung jawab atas produksi kolagen. Radiasi UV merusak matriks ekstraseluler (ECM) dengan meningkatkan aktivitas enzim *matrix metalloproteinases* (MMPs), yang berperan dalam degradasi kolagen dan elastin. UVB mengaktifkan jalur Mitogen-Activated Protein Kinases (MAPK), yang mengarah pada aktivasi faktor transkripsi AP-1, yang berperan dalam transkripsi MMPs. ROS memicu stres oksidatif yang mempercepat proses *photoaging* melalui aktivasi enzim Matrix Metalloproteinase-1 (MMP-1) enzim kunci dalam pemecahan kolagen tipe I, yang mempercepat penuaan kulit (*photoaging*) dengan munculnya keriput dan perubahan tekstur kulit serta penurunan kolagen. UVB merangsang produksi ROS yang merusak component seluler seperti lipid, protein, dan DNA, mengarah pada perubahan struktural serta gangguan fungsi sel. Paparan UVB meningkatkan status inflamasi, di mana ROS secara langsung mengaktifkan reseptor sel untuk sitokin inflamasi seperti IL-1 dan TNF- α . UVB menginduksi aktivasi Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B), yang mengatur ekspresi mediator inflamasi seperti IL-6 dan TNF- α , yang memperburuk inflamasi dan stres oksidatif. Secara keseluruhan, stres oksidatif yang dihasilkan oleh paparan UVB mempercepat

proses *photoaging* dengan meningkatkan aktivitas MMP-1, yang menyebabkan degradasi kolagen dan hilangnya elastisitas kulit.^{18,20,21}

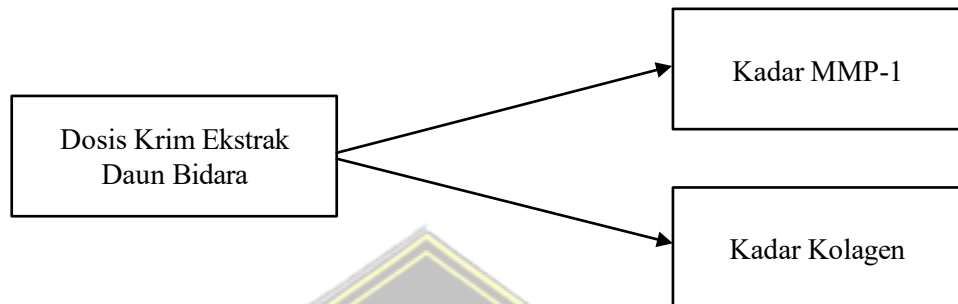
Upaya pencegahan, seperti penggunaan tabir surya, asupan vitamin, pola makan sehat, serta antioksidan dari tanaman, seperti daun bidara, terbukti efektif dalam mencegah *photoaging* dan fotokarsinogenesis melalui pengurangan efek ROS. Daun bidara memiliki potensi antioksidan sedang yang berperan penting dalam mengurangi efek buruk paparan sinar UV, terutama dengan menurunkan ekspresi *Matrix Metalloproteinase-1* (MMP-1) dan menjaga kestabilan kolagen. Daun bidara mengandung senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin, yang memiliki sifat antioksidan dan antiinflamasi. Senyawa tanin dan flavonoid yang terkandung dalam daun bidara menunjukkan aktivitas antiinflamasi dan antioksidan dengan menghambat aktivasi faktor transkripsi AP-1 dan NF- κ B serta memodulasi jalur pensinyalan MAPK dan TGF- β /Smad, yang berperan dalam melindungi kolagen dari degradasi sehingga dapat mencegah terjadinya *photoaging*. Senyawa Alkaloid membantu mempercepat proses penyembuhan luka dan mengurangi rasa nyeri, mendukung efektivitas terapeutik dalam penyembuhan.^{18,21}



Gambar 3.1. Hubungan antar Variabel

3.2. Kerangka Konsep

Berdasarkan konsep masalah dan tinjauan pustaka, maka dapat disusun kerangka konsep sebagai berikut:



Gambar 3.2. Kerangka konsep

3.3. Hipotesis

Pemberian krim ekstrak daun bidara (*Ziziphus Mauritiana*) berpengaruh terhadap kadar MMP-1 dan kolagen pada kulit tikus Wistar jantan (*Rattus Norvegicus*) yang dipapar sinar ultraviolet B.

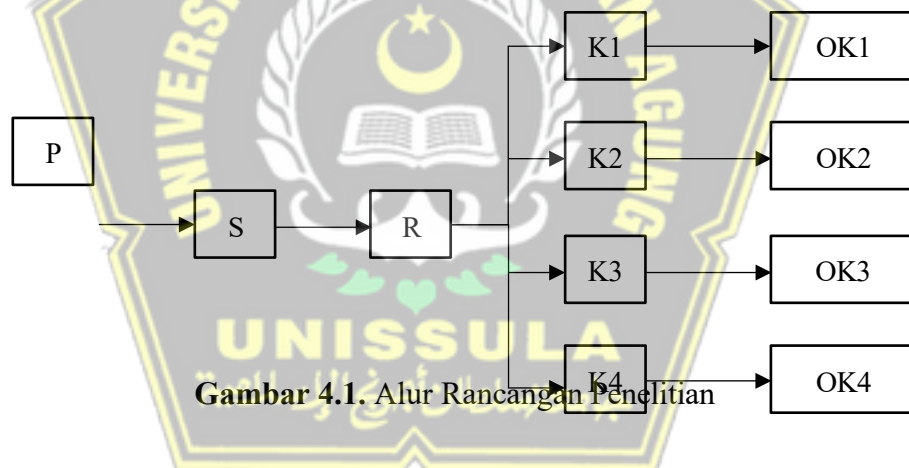
BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian Dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan studi *eksperimental in vivo* dengan menggunakan desain *Post Test Only Control Group*. Penelitian ini dengan menggunakan metode rancangan acak lengkap faktorial sebagai dengan menggunakan tikus Wistar sebagai hewan percobaan yang dipaparkan sinar UVB.

Penelitian ini menggunakan 4 kelompok dengan rincian sebagai berikut



Gambar 4.1. Alur Rancangan Penelitian

Keterangan:

- P = Populasi Penelitian
- S = Sampel Penelitian Tikus Sehat
- R = Randomisasi menjadi 4 kelompok
- K1 = Kelompok sehat, tidak diberi perlakuan
- K2 = Kelompok kontrol negatif (tikus hanya dipapar sinar UV)
- K3 = Kelompok perlakuan 1 (tikus dipapar sinar UVB dan diolesi krim retinol)
- K4 = Kelompok perlakuan 2 (tikus dipapar sinar UVB dan diolesi krim

ekstrak daun bidara 5 %)

O1K1 = Observasi kadar MMP-1 dan Kolagen pada kelompok sehat

O2K2 = Observasi kadar MMP-1 dan Kolagen pada kelompok kontrol negatif

O3K3 = Observasi kadar MMP-1 dan Kolagen pada kelompok kontrol positif

O2K2 = Observasi kadar MMP-1 dan Kolagen pada kelompok perlakuan

4.2. Populasi Dan Sampel Penelitian

4.2.1. Populasi/Subjek penelitian

Populasi dalam penelitian ini terdiri dari tikus jantan galur Wistar yang diperoleh dari *animal house integrated biomedical laboratory*, Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung Semarang. Tikus dinyatakan layak oleh dokter hewan dari laboratorium tersebut. Tikus dipelihara di ruangan berventilasi cukup dengan suhu antara 28-32°C. Tikus diberi makan pelet dan air minum secukupnya.

4.2.2. Besar Sampel

Penelitian ini menggunakan perhitungan menggunakan rumus *Federer* untuk menghitung jumlah sampel, yang dihitung sebagai berikut:

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

Keterangan:

t=kelompok perlakuan

n=jumlah sampel setiap perlakuan

Penelitian ini menggunakan 4 kelompok maka sesuai dengan

rumus Federer:

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

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

$$3(n-1) \geq 15$$

$$3n-3 \geq 15$$

$$3n \geq 18 \quad n \geq 6$$

Jumlah sampel dalam penelitian ini adalah 6 ekor tikus per kelompok perlakuan. Untuk mengantisipasi kemungkinan hilangnya subjek penelitian (*lost to follow-up*), setiap kelompok ditambah 10% dari total sampel ($10\% \times 6 = 1$). Oleh karena itu, setiap kelompok perlakuan ditambahkan 1 ekor tikus cadangan. Dengan demikian, total sampel dalam penelitian ini adalah 28 ekor tikus Wistar jantan.

Kelompok penelitian terdiri dari

1. Kelompok sehat sebanyak 6=1 ekor
2. Kelompok kontrol negatif dipapar sinar UVB sebanyak 7 ekor
3. Kelompok perlakuan 1 dipapar sinar UVB dan diberikan krim retinol sebanyak 7 ekor
4. Kelompok perlakuan 2 dipapar sinar UVB dan diberikan krim ekstrak daun bidara dengan dosis 5 % dengan jumlah tikus masing-masing sebanyak 7 ekor.

4.2.3. Kriteria Sampel penelitian

4.2.3.1. Kriteria inklusi

Kriteria inklusi yang diterapkan dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Tikus putih galur wistar
2. Jenis kelamin jantan
3. Usia 8-12 minggu
4. Berat badan 150-250 gram
5. Tikus dalam kondisi sehat
6. Tidak ada kelainan anatomi
7. Tikus wistar aktif

4.2.3.2. Kriteria *Drop Out*

Tikus yang memenuhi kriteria drop out dalam penelitian ini adalah tikus yang mati atau mengalami infeksi selama proses penelitian.

4.2.4. Teknik Sampel Penelitian

Teknik pengambilan sampel penelitian ini menggunakan cara *simple random sampling*. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini harus sesuai dengan kriteria inklusi dan drop out yang telah ditetapkan. Sebelum memulai penelitian, tikus tersebut diadaptasikan selama satu minggu. Penelitian dimulai setelah masa adaptasi tersebut selesai.

4.3. Variabel Dan Definisi Operasional

4.3.1. Variabel Penelitian

Klasifikasi variabel penelitian meliputi variabel prakondisi, variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel kendali.

4.3.2. Variabel Prakondisi

Dalam penelitian ini, variabel prakondisi yang digunakan adalah tingkat dosis paparan sinar UV-B.

4.3.3. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah krim ekstrak daun bidara 5 %.

4.3.4. Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar MMP-1 dan densitas kolagen.

4.3.5. Variabel Kendali

Variabel kendali dalam penelitian ini adalah faktor-faktor yang dapat memengaruhi variabel tergantung di luar variabel bebas. Faktor-faktor yang dikendalikan tersebut mencakup strain tikus, umur, berat badan, jenis kelamin, dan jenis pakan yang diberikan pada tikus Wistar.

4.3.6. Definisi Operasional Variabel

4.3.6.1. Dosis Krim Ekstrak Daun Bidara

Krim ekstrak daun bidara 5%,⁴⁶ adalah krim yang mengandung ekstrak daun bidara. Ekstrak daun bidara dihasilkan melalui proses maserasi menggunakan pelarut etanol, kemudian dikentalkan dengan *rotary vacuum evaporator*. Dosis krim ekstrak daun bidara dengan konsentrasi 5%. Krim ekstrak daun bidara ini diaplikasikan secara topikal pada punggung tikus Wistar yang telah dicukur. Krim ekstrak daun bidara dioleskan setelah paparan sinar UVB. Pengukurannya dilakukan dalam satuan persen (%) dengan menggunakan skala nominal.

4.3.6.2. Kadar MMP-1 (Matriks Metalloproteinase-1)

Kadar MMP-1 adalah kadar protein MMP-1 yang dimiliki oleh sel fibroblas dermis yang diperiksa dengan metode ELISA (sampel kulit). Kadar MMP-1 pada kulit tikus Wistar. Hasil pengukuran kadar MMP-1 ini dinyatakan dalam persentase (%) dengan skala data rasio.

4.3.6.3. Kadar Kolagen

Jumlah kolagen adalah presentasi pixel jaringan kolagen dermis (Jaringan kulit) berupa jaringan berwarna merah terang dengan pewarnaan *Picro sirius red*. Penilaian dilakukan pada foto preparat dalam format JPEG yang

diambil menggunakan kamera Optilab Pro dan dilakukan pembesaran 400x menggunakan mikroskop Olympus CX41, masing-masing preparat difoto sebanyak 3 kali. Selanjutnya perhitungan dengan analisis digital menggunakan pirantik lunak Adobe Photoshop CS3. Hasil pengukuran kadar kolagen biasanya dinyatakan dalam satuan persen (%), skala data rasio.

4.3.6.4. Krim Retinol

Krim Retinol adalah produk topikal yang mengandung senyawa aktif retinol, turunan vitamin A, dengan merk Vitacid. Persentase retinol dalam krim 0,05%. Hasil pengukuran kadar kolagen biasanya dinyatakan dalam satuan persen (%), skala data rasio.

4.4. Bahan/Materi Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu

1. Daun bidara
2. Krim ekstrak daun bidara 5% dan krim retinol.
3. Tikus Wistar
4. Bahan Kit pemeriksaan MMP-1 dengan metode Elisa merk BT LAB (No. Katalog E0312Ra) dengan rentang deteksi 0,1ng / ml - 30ng / ml dan sensitivitas 0,05ng / ml.
5. Bahan pada pewarnaan kolagen yaitu *Picro sirius red*.

4.5. Peralatan Penelitian

4.5.1. Alat untuk membuat ekstrak daun bidara

Peralatan yang digunakan untuk membuat ekstrak daun bidara 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 paparan dan pemeliharaan, tempat fiksasi, timbangan analitik, jarum 26, spuit 1 cc, alat cukur, sarung tangan, timbangan analitik, UVB *light*, tempat air minum dan makan tikus.

4.5.3. Alat untuk pemeriksaan Imunohistokimia

Alat yang digunakan untuk pemeriksaan imunohistokimia yaitu jaringan kulit sampel dalam larutan formalin, paraffin, antibodi Primer untuk MMP-1, dan antibodi sekunder (enzim/fluorofor), serta reagen deteksi.

4.5.4. Alat untuk pemeriksaan histopatologi

Alat yang digunakan untuk pemeriksaan histopatologi yaitu alat penyimpan slide, Oven jaringan, Penjepit slide, Mikroskop dan kamera mikroskop, Komputer dan perangkat lunak analisis gambar, Lemari es, *Rotary microtome* dan *disposable Knife*, *Water bath* dengan suhu 60°C, entelan dan deck glass.

4.6. Cara Penelitian

4.6.1. Perolehan *Ethical Clearance*

Penelitian ini dimulai dengan pengajuan *ethical clearance* kepada komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung Semarang setelah proposal penelitian disetujui oleh pembimbing dan penguji.

4.6.2. Persiapan Sebelum Perlakuan

1. Adaptasikan 28 ekor tikus wistar dengan lingkungan selama 1 minggu
2. Lakukan pencukuran punggung tikus sebesar 2x3 cm untuk area penyinaran UVB.
3. Dilakukan pengambilan sampel secara acak pada ke 28 tikus wistar yang masuk kriteria penelitian.
4. Dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok sehat, kontrol negatif, perlakuan 1 dan perlakuan 2.
5. Letakkan tikus di kandang kawat yang dilengkapi dengan makanan dan minuman secukupnya. Setiap kandang berisi 7 tikus. Suhu ruangan dipertahankan pada suhu 28-32°C.

4.6.3. Pembuatan krim ekstrak daun bidara

Ekstrak daun bidara dibuat dengan menggiling daun bidara kering menggunakan blender dan mengayaknya untuk mendapatkan serbuk halus. Serbuk daun bidara yang telah di haluskan dimasukkan

ke alat maserator ditambahkan cairan penyari etanol 96%, lalu lakukan pengocokan sesering mungkin selama 3 hari, lakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring. Seluruh hasil penyaringan lalu diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan kecepatan 60 rpm. Sehingga didapatkan ekstrak etanol kental daun bidara. Berat serbuk yang digunakan untuk maserasi yaitu sebanyak 1000 gram dengan bobot ekstrak yang dihasilkan sebanyak 29 gram sehingga randemen ekstrak yang dihasilkan sebesar 2,9%.

Prosedur kerja pembuatan krim ekstrak daun bidara

1. Bahan yang termasuk fase minyak yaitu setil alkohol, propil paraben dan parafin cair di panaskan diatas penangas air sehinggabercampur.
2. Fase air dibuat dengan melarutkan terlebih dahulu metil paraben dalam air yang telah dipanaskan dan natrium lauri sulfat.
3. Krim dibuat dengan menuangkanfase minyak ke dalam fase air (suhu masing- masing fase 70°C).
4. Fase minyak dipindahkan ke dalam lumpang panas dan tambahkan faseair diaduk sampai dingin hingga terbentuk massa krim.
5. Kemudian ekstrak daun bidara yang sudah dilarutkan dengan propilenglikol dimasukkan dan diaduk hingga terbentuk krim tambahkan oleum citri sebagai pewangi.

Tabel 4.1. Formula Krim Ekstrak Daun Bidara 5%.⁵

Komposisi	Formula
Ekstrak Daun Bidara	5%
Setil alkohol	12%
NLS	0,5%
Paraffin cair	10%
Nipagin	0,18%
Nipasol	0,02%
Propilenglikol	10%
Oleum citri	Qs
Aquadest	ad 100%

Hasil uji skrining kualitatif fitokimia ekstrak daun bidara arab menunjukkan bahwa ekstrak daun bidara arab positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin dan triterpenoid yang mana sesuai dengan penelitian.⁵

Tabel 4.2. Hasil uji Skrining Kualitatif Fitokimia Ekstrak Daun Bidara 5 %.⁵

Uji	Ekstrak Daun Bidara Arab
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Saponin	+
Steroid	-
Triterpenoid	+

4.6.4. Penetapan Dosis Krim Ekstrak daun bidara

Pada penelitian ini, krim ekstrak daun bidara dengan konsentrasi 5% diaplikasikan secara topikal. Krim tersebut diberikan setiap hari dengan dosis 0,5 gram per tikus uji.

4.6.5. Cara Pemberian Krim Ekstrak daun bidara dan Paparan sinar UVB

1. Letakkan tikus dalam wadah yang memiliki tutup sehingga tikus tidak membalikkan badan saat diberikan paparan sinar UVB.

Jarak penyinaran dari lampu ke punggung yaitu 20 cm. Dilakukan selama 14 hari dengan waktu penyinaran 15 menit dengan dosis 160 mJ/cm setiap hari selama 2 minggu.

2. Krim retinol dan krim ekstrak daun bidara diaplikasikan setelah paparan sinar UVB selama 14 hari sehari sekali.
3. Perlakuan masing-masing kelompok sebagai berikut :
 - a. K1= Kelompok sehat, 7 ekor tikus tidak diberi perlakuan
 - b. K2= Kelompok kontrol negatif, 7 ekor tikus hanya dipapar sinar UVB
 - c. K3= Kelompok perlakuan 1, 7 ekor tikus dipapar sinar UVB dan diolesi krim retinol
 - d. K4= Kelompok perlakuan 2, 7 ekor tikus dipapar sinar UVB dan diolesi krim ekstrak daun bidara

4.6.6. Terminasi Tikus

Setelah pemberian krim pada hari ke-21 penelitian, tikus dibiarkan selama 24 jam. Pengambilan sampel kulit dilakukan melalui biopsi. Sebelum biopsi, tikus di- euthanasia menggunakan xylazine 5 mg/kgBB secara intramuskular (IM) dan ketamin 50 mg/kgBB IM. Setelah tikus dipastikan mati, barulah sampel kulit diambil.

4.6.7. Metode Elisa Kadar MMP-1

Kadar MMP-1 diperiksa dengan menggunakan Kit Pemeriksaan MMP-1, menggunakan metode ELISA merk BT LAB dengan rentang deteksi 0.1ng /mL - 30ng /mL dan sensitivitas 0,05ng /mL. Proses pemeriksaan kadar MMP-1 adalah sebagai berikut:

4.6.7.1. Isolasi Protein

1. Potongan jaringan dengan berat sekitar 0,5gr ditaruh dalam *microtube* volume 1,5ml.
2. Dimasukkan dalam *freezer* -80°C, dibiarkan selama 24 jam.
3. Disiapkan es serut.
4. Diambil PBS dari kulkas dan sampel dari *freezer*, ditaruh dalam *cool box* yang telah berisi es serut.
5. *Becker glass* volume 250ml diisi es serut dan disemprot alcohol 96%.
6. Diambil sampel dan dipotong kecil- kecil ditambah 500µL PBS dingin.
7. Tabung *microtube* ditaruh ditengah es serut dalam becker glass.
8. *Becker glass* ditaruh pada meja didalam alat ultrasonic.
9. Disesuaikan dengan kedalaman dan probe agar bisa menyentuh jaringan tapi tidak terlalu di dasar tabung *valcon*.

10. Alat disetting selama 1 menit, probe bekerja 29 detik, istirahat 1 detik.
11. Lanjut OK.
12. Alat akan berbunyi bertanda probe bersentuhan dengan jaringan.
13. Setelah selesai alat akan berhenti dan berbunyi.
14. Dikeluarkan tabung *microtube* dan langsung dimasukkan dalam *cool box* yang berisi es serut.
15. Setelah semua sampel dikerjakan seperti langkah No.6-14, dilanjutkan *centrifuge* selama 10 menit 12000rpm pada suhu 4°C.
16. Disiapkan *microtube* yang baru dan diberi kode.
17. Supernatan diambil dan dimasukkan dalam *microtube* yang telah disiapkan.
18. Ditaruh dalam *cool box*.
19. Sampel disimpan dalam freezer -20°C sebelum dilakukan pemeriksaan selanjutnya.

4.6.7.2. Persiapan reagen

1. Semua reagen harus dibawa ke suhu kamar sebelum digunakan.
2. Standar : Menyusun kembali 120 µl standar (32 ng / ml) dengan 120 µl standar digesting untuk menghasilkan 16 ng / ml larutan stok standar. Biarkan standard selama 15

menit dengan pengadukan lembut sebelum membuat pengenceran. Siapkan duplikat titik standard dengan mengencerkan secara serial larutan stok standar (16ng/ml) 1:2 dengan pengencer standard untuk menghasilkan larutan 8ng/ml, 4ng/ml, 2ng/ml dan 1ng/ml. Pengencer standard berfungsi sebagai standard nol (0 ng/ml). ml) Setiap pengenceran larutan standar yang disarankan adalah sebagai berikut:

- a. Siapkan semua reagen, larutan standar dan sampel. Bawa semua reagen ke suhu kamar sebelum digunakan. Pengujian dilakukan pada suhu kamar.
- b. Tentukan jumlah strip yang diperlukan untuk pengujian. Masukkan strip kedalam bingkai untuk digunakan. Strip yang tidak digunakan harus disimpan pada 2-8 ° C.
- c. Tambahkan 50 µl standard ke *well* standard
- d. Tambahkan 40 µl sampel ke *well* sampel lalu tambahkan 10 µl antibodi anti-MMP-1 ke *well* sampel, lalu tambahkan 50 µl streptavidin-HRP ke *well* sampel dan *well* standard. Aduk rata. Tutup pelat dengan sealer Inkubasi 60 menit pada 37°C.
- e. Lepas *sealer* dan cuci piring 5 kali dengan *wash buffer*. Rendam *well* dengan *wash buffer* minimal

0,35 ml selama 30 detik sampai 1 menit untuk setiap pencucian. Untuk pencucian otomatis, aspirasi semua *well* dan cuci 5 kali dengan *wash buffer*, *overflowing well* dengan buffer pencuci. Serap piring ke handuk kertas atau bahan lainnya.

- f. Tambahkan 50 µl larutan substrat A ke masing-masing *well* dan kemudian tambahkan 50 µl larutan substrat B ke setiap *well*. Inkubasi piring yang ditutup dengan *sealer* baru selama 10 menit pada suhu 37 ° C dalam gelap.
- g. Tambahkan 50 µl Stop Solution ke masing-masing *well*, warna biru akan langsung berubah menjadi kuning.
- h. Tentukan densitas optik (nilai OD) masing-masing *well* segera menggunakan pembaca pelat mikro yang disetel ke 450 nm dalam waktu 10 menit setelah menambahkan larutan penghenti.

$$\text{Kadar (\%)} = \frac{\text{Fibroblas yang mengekspresikan MMP-1}}{\text{area seluruh jaringan}} \times 100\%$$

4.6.7.3. Pembuatan Sediaan Histologi

Pembuatan sediaan histologis dibagi beberapa tahapan yaitu tahap fiksasi, dehidrasi, *clearing*, *embedding*, dan pemotongan.

1. Tahap fiksasi

Jaringan kulit tikus direndam dalam larutan formalin buffer fosfar 10% selama 1 hari kemudian dilakukan sampling bagian jaringan yang akan diambil.

2. Dehidrasi

Potongan jaringan dimasukkan ke dalam larutan alkohol bertingkat, mulai dari 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, hingga 96%, untuk mengeluarkan cairan dari dalam jaringan. Setelah itu, jaringan direndam dalam larutan campuran alkohol-xylol selama 1 jam, lalu dilanjutkan dengan perendaman dalam larutan xylol murni selama 2 kali, masing-masing selama 2 jam.

3. Tahap *embedding*

Setelah dilakukan infiltrasi sebanyak 2 kali selama masing – masing 1 jam dengan paraffin murni (Histoplast) cair (suhu 60°C), kemudian jaringan ditanam ke dalam paraffin cair dan dibiarkan membentuk blok yang memakan waktu selama 1 hari agar mudah diiris dengan mikrotom.

4. Tahap pemotongan

Proses pemotongan jaringan dengan mikrotom

Leica 820, tebal 5 μ secara serial, diambil irisan yang paling baik untuk selanjutnya dilakukan penempelan pada gelas obyek yang sudah diolesi perekat, ditetesi akuades dan dikeringkan. Kemudian terakhir dilakukan pengecatan dengan *Picro sirius red*.

4.6.7.4. Pewarnaan dengan *Picro sirius red*

Sebelum melakukan pengecatan, slide melalui tahapan deparafinisasi dan rehidrasi dengan perendaman dalam larutan *xylene* 2 x 5 menit, etanol 100% selama 2 menit, etanol 96% selama 2 x 2 menit, etanol 70% selama 2 menit, dan akuades selama 2 menit. Kemudian dilakukan pengecatan dengan *Picro sirius red* selama 1 jam agar memberikan warna kemerahan pada kolagen. Slide kemudian dicuci dengan air asam sebanyak 2 kali dan residu air dihilangkan dengan menggoyangkan slide secara perlahan. Tahap dehidrasi dilakukan dalam etanol 70% selama 10 detik, etanol 96% selama 2 x 10 detik, etanol 100% selama 10 detik, dan *xylene* selama 2 x 2 menit. Lalu slide dikeringkan selama 2 jam dalam suhu ruangan dan dilakukan *mounting* pada medium berbasis *xylene* (DPX).

4.6.7.5. Metode Pengamatan Jumlah Kolagen

Pengamatan hasil jumlah kolagen dilakukan dengan

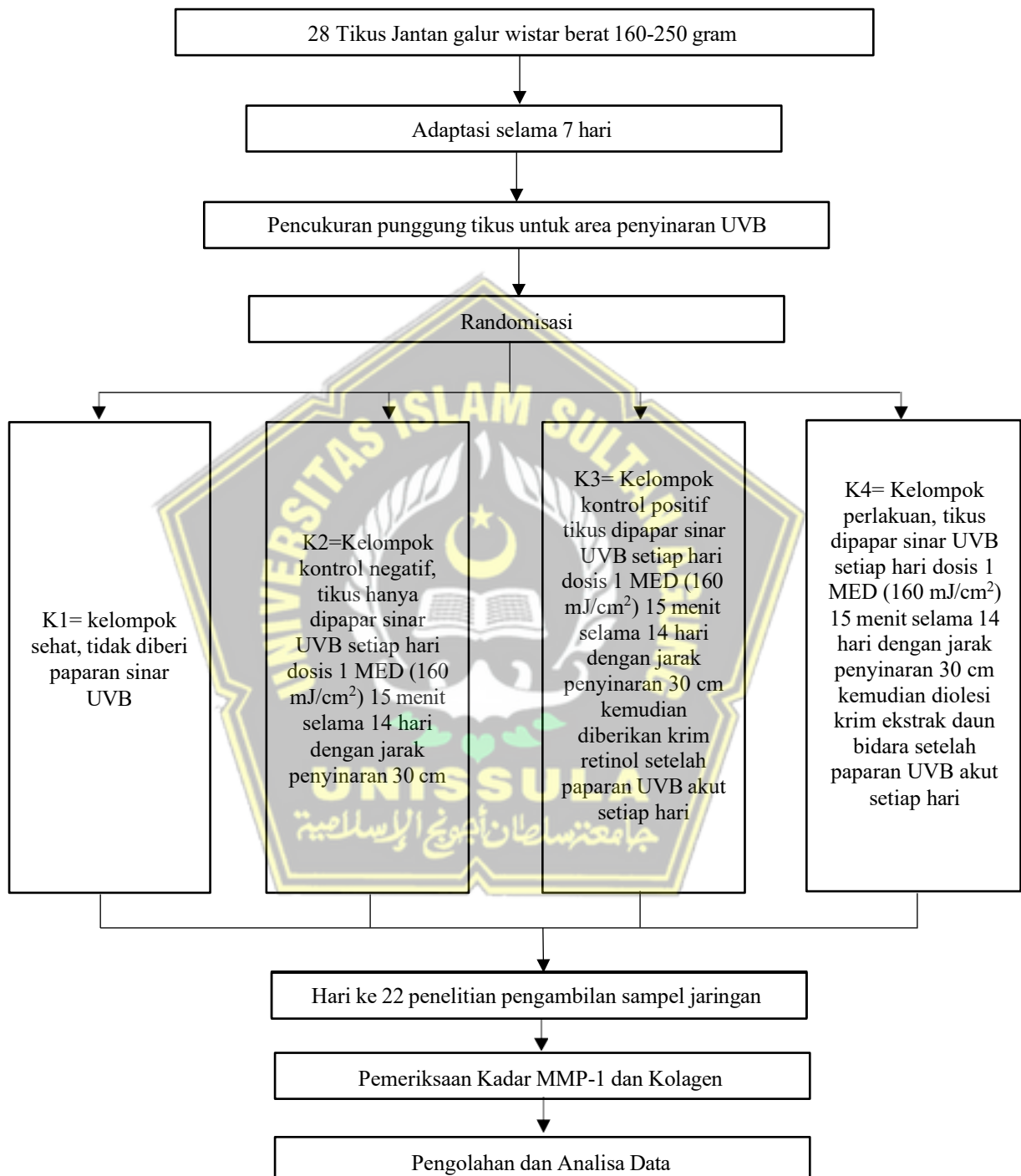
metode analisis digital. Sediaan dengan pembesaran 400 kali menggunakan mikroskop Olympus CX41 (Japan), difoto dengan kamera Optilab Pro (Miconos, Indonesia). Masing masing preparat difoto sebanyak 3 kali dengan menggunakan format JPEG menggunakan perangkat lunak Optilab Viewer 1.0 (Miconos, Indonesia). Penghitungan jumlah kolagen dermis dengan menggunakan piranti lunak Adobe PhotoShop CS3 dan Image J.

Jaringan kolagen yang tampak berwarna merah terang dipilih menggunakan fungsi “*Magic Wand*” oleh Adobe PhotoShop CS3. Kemudian dengan menggunakan fungsi “*inverse*” maka terpilihlah *pixel* selain warna merah, lalu dihapus menggunakan fungsi “*delete*” sehingga pada gambar hanya tersisa *pixel* dengan warna merah. Jumlah kolagen dihitung sebagai persentase *pixel* area kolagen yang berwarna merah dibandingkan dengan *pixel* area seluruh jaringan. Pertama-tama gambar yang sudah dihilangkan *pixel* selain warna merah, dipisah channel warna merahnya melalui fungsi “*RGB stack*” pada Image J. Setelah didapatkan channel warna merah kemudian dibuat nilai “*threshold*” untuk warna merah, lalu dijalankan fungsi “*measure*” sehingga didapatkan presentase *pixel* warna merah dari total pixel secara otomatis.

$$\text{Jumlah Kolagen} = \frac{\text{pixel area kolagen}}{\text{area seluruh jaringan}} \times 100\%$$



4.7. Alur Penelitian



Gambar 4.2. Alur Penelitian

4.8. Teknik Pengumpulan Data

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan desain *post-test only control group*. Sampel yang digunakan adalah tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*), yang dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor tikus, sehingga total sampel berjumlah 28 ekor tikus. Tikus menjalani proses adaptasi selama 7 hari, dan jika ada tikus yang mati karena stres akibat ketidakmampuan beradaptasi, meskipun telah menjalani adaptasi, akan dimasukkan ke dalam kriteria drop out. Pembagian kelompok meliputi:

1. K1 = Kelompok sehat, 6+1 ekor tikus tanpa perlakuan.
2. K2 = Kelompok kontrol negatif, 6+1 ekor tikus hanya dipapar sinar UVB.
3. K3 = Kelompok perlakuan 1, 6+1 ekor tikus dipapar sinar UVB dan diberi krim retinol.
4. K4 = Kelompok perlakuan 2, 6+1 ekor tikus dipapar sinar UVB dan diberi krim ekstrak daun bidara.

4.9. Analisa Data

Data hasil penelitian dikumpulkan dan disajikan dalam bentuk statistik (setelah menjalani proses seleksi, termasuk editing, coding, dan tabulasi). Pengolahan data dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS. Hasil data kadar MMP-1 dan kolagen dari masing-masing kelompok ditampilkan dalam grafik dan tabel. Selanjutnya, uji normalitas dilakukan menggunakan uji Shapiro-Wilk, sedangkan uji homogenitas dilakukan dengan Levene test.

Hasil analisis menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan tidak homogen, uji *One-Way Anova* dilakukan pada kadar MMP-1 dengan nilai signifikansi $p < 0,05$. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Post-hoc tamhane* untuk melihat perbedaan antar dua kelompok. Sedangkan hasil densitas kolagen tidak terdistribusi normal dan tidak homogen, sehingga dilakukan analisis dilakukan dengan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* dengan nilai signifikansi $p < 0,05$.



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini telah mendapat persetujuan *ethical clearance* dari Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung Semarang dan seluruh proses pemeliharaan hewan percobaan dan perlakuan paparan sinar UVB dilakukan di laboratorium pengembangan hewan coba, pembuatan krim ekstrak daun bidara di laboratorium kimia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian krim ekstrak daun bidara (*Ziziphus Mauritiana*) terhadap kadar MMP-1 dan kolagen pada kulit tikus Wistar jantan (*Rattus Norvegicus*) yang dipapar sinar ultraviolet B.

Desain penelitian yang digunakan adalah *Post Test Only Control Group*. Tikus Wistar yang digunakan dibagi menjadi empat kelompok perlakuan, yaitu kelompok sehat (K1), kelompok kontrol negatif (K2), serta dua kelompok perlakuan yang masing-masing diberi krim retinol (K3) dan krim ekstrak daun bidara 5% (K4) setelah paparan sinar UVB selama 14 hari. Selama periode paparan UVB, masing-masing kelompok dipaparkan dengan dosis 160 mJ/cm² selama 15 menit setiap hari. Setelah 21 hari, dilakukan pengambilan sampel kulit melalui prosedur biopsi setelah tikus dieutanasia. Kadar MMP-1 diperiksa dengan menggunakan Kit Pemeriksaan MMP-1, menggunakan metode ELISA merk BT LAB dengan rentang deteksi 0.1 ng / ml - 30 ng/ml dan sensitivitas 0,05 ng/ml. Pengamatan jumlah kolagen dilakukan dengan pewarnaan dengan *Picro sirius red*, analisis digital pada

sediaan dengan pembesaran 400x menggunakan mikroskop Olympus CX41. Setiap preparat difoto sebanyak 3 kali menggunakan kamera Optilab Pro dan perangkat lunak Optilab Viewer 1.0. Penghitungan jumlah kolagen dermis dilakukan dengan piranti lunak Adobe Photoshop CS3 dan Image J.

5.1.1. Hasil Analisis Kadar MMP-1

Hasil uji dan analisis rata-rata kadar MMP-1 pada masing-masing kelompok penelitian ditunjukkan pada tabel 5.1:

Tabel 5.1. Hasil penelitian kadar MMP-1(ng/mL) pada jaringan kulit

Variabel	Kelompok				<i>p</i>
	K1	K2	K3	K4	
	Tikus sehat	Kontrol negatif	Krim retinol	Krim EDB 5%	
	Rerata ± SD n = 6	Rerata ± SD n = 6	Rerata ± SD n = 6	Rerata ± SD n = 6	
Kadar MMP-1 (ng/mL)	5,09±0,36	5,46±0,77	6,31±0,32	7,51±0,1,12	
<i>Shapiro Wilk</i>	0,475*	0,391*	0,883*	0,775*	
<i>Levene's Test</i>					0,006
<i>One way anova</i>					0,000*
Keterangan: * <i>Shapiro-Wilk</i> = Normal ($p>0,05$)					
* <i>Leuvene Test</i> = Homogen ($p>0,05$)					
* <i>One way anova</i> = Signifikan ($p<0,05$)					

Berdasarkan hasil rerata (tabel 5.1) kadar MMP-1 paling tinggi pada kelompok K4 dengan pemberian krim ekstrak daun bidara 5% sebesar 7,51ng/mL, pada kelompok K3 dengan pemberian krim retinol lebih rendah sebesar 6,31ng/mL, pada kelompok negatif K2 tikus hanya dipapar sinar UV lebih rendah sebesar 5,46ng/mL dan kadar paling rendah pada kelompok tikus sehat K1 sebesar 5,0931ng/mL.

Uji normalitas pada rata-rata kadar MMP-1 menggunakan uji *Shapiro Wilk* diperoleh hasil $p > 0,05$ menunjukkan hasil normal pada semua kelompok, dengan sebaran data yang tidak homogen dari hasil uji *Levene's test* $p = 0,006$ ($p < 0,05$). Hasil uji rata-rata kadar MMP-1 yang normal dan tidak homogen dilakukan uji *One way anova*.

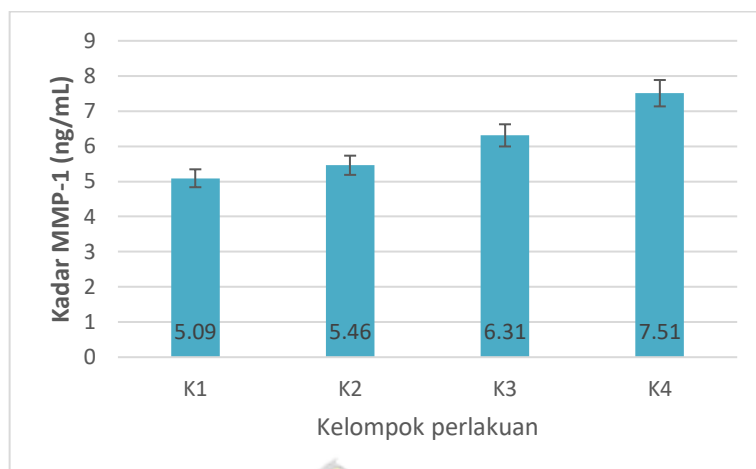
Hasil uji *One way anova* menunjukkan perbedaan yang signifikan rata-rata kadar MMP-1 pada semua kelompok $p = 0,000$ ($p < 0,05$), kemudian dilanjutkan dengan uji *Post hoc tamhane* untuk mengetahui pasangan dua kelompok yang berbeda, seperti hasil pada (tabel 5.2):

Tabel 5.2. Hasil uji Post hoc tamhane kadar MMP-1 (ng/mL) antar kelompok penelitian

Kelompok	K2	K3	K4
K1	0,904	0,001*	0,014*
K2		0,236	0,031*
K3			0,251

Keterangan: berbeda bermakna ($p < 0,05$)

Hasil analisis uji *Post hoc tamhane* terhadap kadar MMP-1 didapatkan adanya perbedaan yang tidak bermakna antar dua kelompok yaitu kelompok K1 dengan K2, kelompok K2 dengan K3 dan kelompok K3 dengan K4, sedangkan kelompok yang memiliki perbedaan bermakna yaitu kelompok K1 dengan K3, K1 dengan K4, dan K2 dengan K4. Perbedaan antar dua kelompok dapat dilihat seperti tergambar pada grafik 5.1.

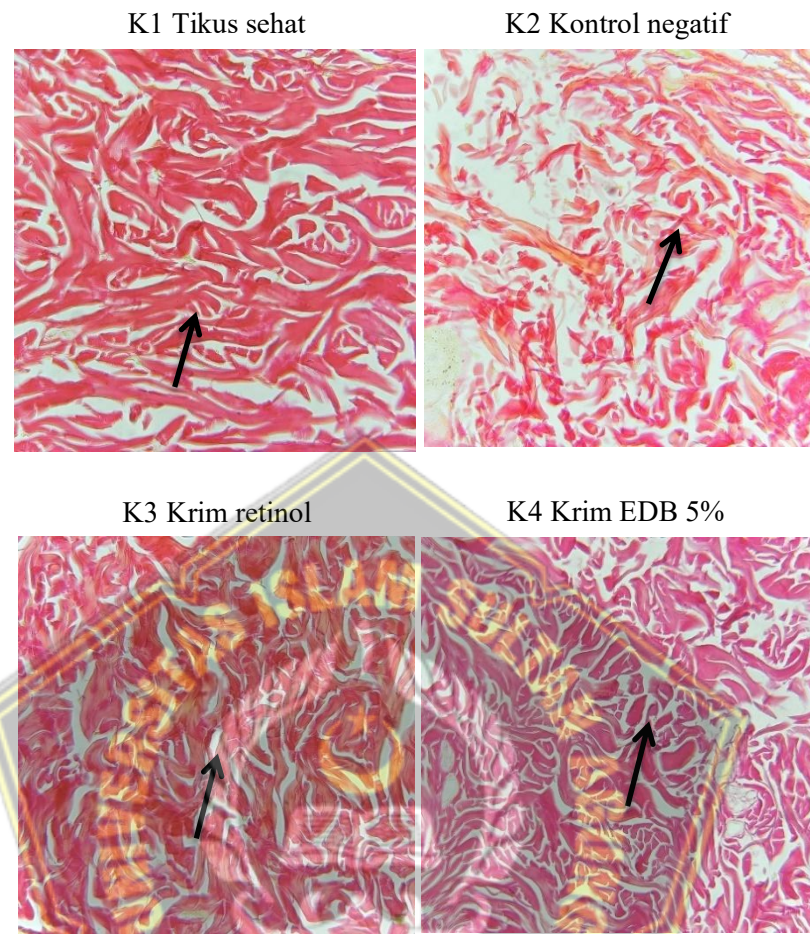


Gambar 5.1. Grafik rerata kadar MMP-1 dan Post hoc tamhane antar kelompok

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan dengan krim ekstrak daun bidara 5% memberikan kadar MMP-1 tertinggi, diikuti oleh krim retinol, kelompok kontrol negatif yang hanya dipapar UVB, dan kelompok sehat dengan kadar MMP-1 terendah.

5.1.2. Hasil Analisis Densitas Kolagen

Hasil pewarnaan kolagen dengan Picro Sirius Red menunjukkan perbedaan densitas kolagen antar kelompok. Kelompok kontrol sehat (K1) memiliki densitas tertinggi (100%) dengan warna merah paling intens. Kelompok retinol (K3) menunjukkan penurunan ringan (97,50%), disusul kelompok krim ekstrak daun bidara 5% (K4) dengan densitas 95,83%. Kelompok yang hanya terpapar UV (K2) menunjukkan kerusakan kolagen terbesar dengan densitas terendah (95,00%). Seperti pada hasil gambar 5.2



Gambar 5.2. Hasil pewarnaan Picro Sirius Red pada tiap kelompok menggunakan mikroskop perbesaran 400x

Hasil uji dan analisis densitas pada masing-masing kelompok penelitian ditunjukkan pada tabel 5.3:

Tabel 5.3. Hasil penelitian densitas kolagen (%) pada jaringan kulit

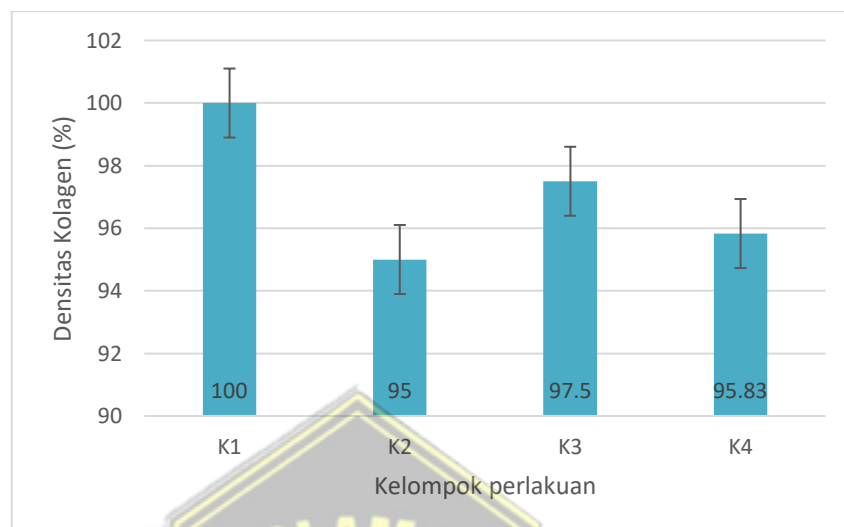
Variabel	Kelompok				<i>p</i>
	K1	K2	K3	K4	
	Tikus sehat	Kontrol negatif	Krim retinol	Krim EDB 5%	
	Rerata ± SD	Rerata ± SD	Rerata ± SD	Rerata ± SD	
	n = 6	n = 6	n = 6	n = 6	
Densitas kolagen (%)	100±0,00	95,00±5,47	97,50±2,74	95,83±2,04	
<i>Shapiro Wilk</i>	-	0,004	0,004	0,000	0,000
<i>Levene's Test</i>					0,071
<i>Kruskal Wallis</i>					
Keterangan: * <i>Shapiro-Wilk</i> = Normal ($p > 0,05$)					
* <i>Leuvene Test</i> = Homogen ($p > 0,05$)					
* <i>Kruskal Wallis</i> = Signifikan ($p < 0,05$)					

Berdasarkan hasil (tabel 5.3) rata-rata densitas kolagen paling tinggi pada kelompok tikus sehat K1 sebesar 100%, lebih rendah pada kelompok K3 dengan pemberian krim retinol sebesar 97,50%. Pada kelompok K4 dengan pemberian krim ekstrak daun bidara 5% sebesar 95,83%, dan kelompok negatif K2 tikus hanya dipapar sinar UV lebih rendah sebesar 95,00%.

Uji normalitas pada rata-rata densitas kolagen menggunakan uji *Shapiro Wilk* diperoleh hasil $p < 0,05$ pada semua kelompok menunjukkan hasil tidak normal, dengan sebaran data yang tidak homogen dari hasil uji *Levene's test* $p 0,000$ ($p < 0,05$). Hasil uji rata-rata densitas kolagen yang tidak normal dan tidak homogen dilakukan uji non parametrik *Kruskal Wallis test*.

Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan dengan hasil rata-rata densitas kolagen 0,071 ($p > 0,05$), sehingga dapat disimpulkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan densitas kolagen antar semua kelompok perlakuan, Seperti tergambar pada grafik 5.2 sebagai

berikut:



Gambar 5.3. Grafik rerata densitas kolagen antar kelompok

Hasil penelitian menunjukkan bahwa meskipun terdapat perbedaan rata-rata persentase(%) densitas kolagen antar kelompok, uji *Kruskal-Wallis* mengungkapkan bahwa perbedaan tersebut tidak signifikan ($p > 0,05$). Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa pemberian krim ekstrak daun bidara, krim retinol, dan kelompok tanpa perlakuan yang dipapar sinar UVB tidak berpengaruh signifikan terhadap densitas kolagen antar kelompok.

Densitas kolagen dipengaruhi oleh keseimbangan antara sintesis dan degradasi kolagen. Paparan UVB merangsang produksi MMP-1 untuk memecah kolagen, namun juga memicu produksi kolagen baru. Pemberian krim retinol atau ekstrak daun bidara dapat mempengaruhi sintesis kolagen melalui mekanisme stimulus kolagen (retinol) atau perlindungan antioksidan dan anti-inflamasi, meskipun perlakuan ini meningkatkan aktivitas remodeling kolagen, tidak ada perbedaan signifikan pada densitas kolagen antar kelompok, perbaikan yang seimbang antara degradasi dan sintesis

kolagen yang terjadi secara bersamaan.^{47,48}

5.2. Pembahasan

Hasil penelitian dengan paparan UVB pada kelompok K2 meningkatkan kadar MMP-1 dibandingkan kelompok K1 yang sehat, perbedaan yang tidak signifikan antara kedua kelompok ini menunjukkan bahwa respons biologis terhadap kerusakan UVB bisa bervariasi, dan faktor lain seperti tingkat stres oksidatif dan proses perbaikan jaringan bisa memengaruhi hasil tersebut.⁴⁹ Kelompok K2 mengalami kerusakan akibat paparan UVB, namun peningkatan produksi MMP-1 diimbangi oleh proses perbaikan dan pembentukan kolagen baru. Meskipun terjadi sedikit peningkatan, kadar MMP-1 pada kelompok K2 tidak berbeda signifikan dibandingkan dengan kelompok K1, yang tetap berfungsi normal tanpa paparan UVB.⁴⁹

Paparan UVB selama 14 hari kemudian diberikan krim ekstrak daun bidara (K4) menunjukkan peningkatan kadar MMP-1 berkaitan erat dengan proses remodeling kolagen dan perbaikan jaringan kulit. Kerusakan kolagen yang terdapat pada dermis kulit memicu pembentukan radikal bebas yang merusak struktur matriks ekstraseluler, termasuk kolagen tipe I dan III. Kerusakan ini memicu produksi MMP-1 sebagai respons adaptif tubuh untuk memecah kolagen yang rusak dan memberikan ruang bagi kolagen baru untuk diproduksi. Pada hari-hari awal paparan UVB, kulit merespons dengan meningkatkan produksi MMP-1 untuk memperbaiki kolagen yang hancur.⁴⁸

Kelompok yang diberi krim ekstrak daun bidara, dengan kandungan

flavonoid, tanin, dan saponin, berfungsi mengurangi stres oksidatif yang ditimbulkan oleh radikal bebas akibat paparan UVB. Radikal bebas tersebut dapat menghambat proses perbaikan kulit, termasuk produksi MMP-1 yang optimal. Dengan adanya kandungan antioksidan dalam ekstrak daun bidara, kerusakan lebih lanjut dapat diminimalkan, sehingga sel-sel kulit dapat memproduksi MMP-1 dengan lebih efektif. Perlindungan ini mendukung proses remodeling kolagen, menjadikannya lebih lancar dan lebih cepat.²²

MMP-1 berfungsi dalam degradasi kolagen yang rusak serta perbaikan matriks ekstraseluler kulit. Peningkatan kadar MMP-1 mempercepat proses penghancuran kolagen yang rusak, sehingga memberikan kesempatan bagi kolagen baru yang lebih sehat untuk terbentuk menggantikan yang lama. Secara normal, paparan UVB merangsang produksi MMP-1, namun pada kelompok yang diberi krim ekstrak daun bidara, kadar MMP-1 meningkat secara lebih signifikan. Hal ini disebabkan oleh peningkatan ekspresi gen yang terlibat dalam sintesis MMP-1. Ekstrak daun bidara, melalui mekanisme antioksidan dan anti-inflamasi, turut mempercepat proses remodeling kolagen dan meningkatkan regenerasi kulit dengan cara yang lebih efisien.⁵⁰

Ekstrak daun bidara dapat meningkatkan ketersediaan faktor pertumbuhan penting, seperti VEGF dan TGF- β , yang berperan dalam proses penyembuhan kulit. Faktor-faktor ini membantu perbaikan kulit dengan merangsang produksi kolagen dan aktivasi MMP-1. Pada kelompok yang diberi krim ekstrak daun bidara, peningkatan faktor pertumbuhan ini mempercepat perbaikan kulit, sehingga kadar MMP-1 meningkat lebih tinggi

dibandingkan dengan kelompok lain.^{51,52}

Kelompok K4 (krim ekstrak daun bidara 5%) menunjukkan kadar MMP-1 yang lebih tinggi dibandingkan K3 (krim retinol), meskipun perbedaan secara statistik tidak bermakna. Namun, retinol merangsang produksi kolagen dan MMP-1 dengan mempercepat pergantian sel kulit, tetapi tidak memiliki efek antioksidan atau anti-inflamasi yang kuat.⁵³ Sebaliknya, ekstrak daun bidara mengandung senyawa aktif yang memiliki sifat antioksidan dan anti-inflamasi, yang melindungi kulit dari kerusakan UVB, meningkatkan produksi MMP-1, dan memperbaiki kulit dengan lebih efektif.^{10,40} K3 dan K4 meningkatkan MMP-1, tetapi ekstrak daun bidara cenderung lebih efektif.

Penelitian menunjukkan ekstrak daun bidara memiliki sifat antioksidan dan antiinflamasi yang efektif melindungi kulit dari kerusakan akibat paparan sinar UVB, mengindikasikan bahwa krim ekstrak daun bidara 5% memberikan efek perlindungan yang lebih signifikan terhadap kerusakan UVB dan merangsang proses perbaikan kulit yang lebih baik melalui peningkatan kadar MMP-1 dibandingkan dengan perlakuan lainnya.^{54,55}

Kelompok yang diberi perlakuan menunjukkan densitas kolagen yang lebih rendah dibandingkan kelompok K1 (tikus sehat), kelompok yang diberi perlakuan dengan krim retinol dan ekstrak daun bidara menunjukkan perlindungan yang lebih baik terhadap kerusakan akibat UVB dibandingkan dengan kelompok K2 yang hanya dipapar sinar UVB. Namun, tidak ada perbedaan signifikan yang ditemukan antar kelompok perlakuan dalam hal

densitas kolagen.

Hasil penelitian terhadap densitas kolagen menunjukkan penurunan pada kelompok perlakuan (K3 dan K4) dibandingkan kelompok sehat (K1), perlakuan dengan krim retinol dan ekstrak daun bidara lebih efektif dalam melindungi kolagen dari kerusakan akibat paparan UVB dibandingkan dengan kelompok yang hanya terpapar sinar UV. Namun, perbedaan densitas kolagen antar kelompok perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik.

Hasil pewarnaan jaringan kolagen menggunakan *Picro Sirius Red* menunjukkan perbedaan densitas kolagen yang signifikan antar kelompok perlakuan, ditunjukkan melalui variasi intensitas warna merah pada jaringan. Pewarnaan ini memiliki afinitas spesifik terhadap kolagen tipe I dan III, komponen utama matriks ekstraseluler kulit, sehingga intensitas warna merah yang terbentuk mencerminkan jumlah dan kerapatan serat kolagen fibrilar. Kelompok kontrol sehat (K1) menunjukkan warna merah paling intens dengan densitas mencapai 100%, mencerminkan integritas kolagen yang utuh dan struktur fibrilar yang padat. Sebaliknya, kelompok yang hanya mendapat paparan sinar UV tanpa perlakuan (K2) memperlihatkan warna merah paling pudar dengan densitas terendah sebesar 95,00%, menunjukkan kerusakan kolagen paling signifikan akibat stres oksidatif dan degradasi matriks. Kelompok yang diberi krim retinol (K3) masih menunjukkan warna merah yang cukup kuat, dengan densitas kolagen sebesar 97,50%, menandakan bahwa perlakuan ini mampu memberikan perlindungan kolagen yang relatif

baik. Sementara itu, kelompok yang mendapatkan perlakuan krim ekstrak daun bidara 5% (K4) memiliki intensitas warna merah lebih redup dibanding kelompok retinol, dengan densitas sebesar 95,83%, yang mengindikasikan efek protektif terhadap kolagen yang lebih rendah namun tetap ada.

Penurunan intensitas warna akibat paparan UV mencerminkan degradasi kolagen, sedangkan intensitas yang tetap tinggi menunjukkan efektivitas perlakuan dalam melindungi struktur jaringan ikat. Temuan ini mendukung peran senyawa aktif dalam ekstrak daun bidara, seperti flavonoid dan polifenol, yang diketahui memiliki sifat antioksidan dan antiinflamasi. Senyawa tersebut berkontribusi dalam mengurangi kerusakan kolagen akibat radikal bebas serta merangsang aktivitas enzim MMP-1 yang berperan dalam remodeling kolagen, sehingga mendukung proses perbaikan jaringan kulit yang terpapar UVB.

Paparan UVB merusak kolagen dan merangsang produksi MMP-1 untuk mengdegradasi kolagen yang rusak, memicu sintesis kolagen baru sebagai respons terhadap kerusakan tersebut. Pemberian perlakuan seperti krim retinol atau ekstrak daun bidara dapat meningkatkan sintesis kolagen, tetapi kedua proses degradasi kolagen melalui MMP-1 dan sintesis kolagen berlangsung bersamaan. Meskipun terdapat peningkatan dalam kedua proses ini, keseimbangan antara degradasi dan sintesis kolagen dapat menyebabkan densitas kolagen tidak mengalami perubahan signifikan. Meskipun masing-masing proses meningkat, hasil akhirnya adalah densitas kolagen yang tetap stabil, tanpa perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan.⁵⁶

Densitas kolagen merupakan parameter yang memerlukan waktu lebih lama untuk menunjukkan perubahan signifikan, terutama dalam konteks proses remodeling kolagen. Proses ini melibatkan degradasi kolagen yang rusak dan sintesis kolagen baru, yang berlangsung secara bertahap. Durasi penelitian selama 14 hari belum cukup untuk memberikan efek jangka panjang dari perlakuan terhadap densitas kolagen, karena perubahan pada struktur matriks ekstraseluler kulit biasanya memerlukan waktu yang lebih lama untuk terwujud secara jelas.^{57,58}

Keseimbangan antara proses degradasi dan sintesis kolagen, bersama dengan durasi waktu penelitian yang terbatas, merupakan faktor utama yang menjelaskan mengapa tidak terdapat perbedaan signifikan dalam densitas kolagen antar kelompok. Proses remodeling kolagen yang melibatkan pemecahan kolagen lama dan pembentukan kolagen baru memerlukan waktu yang cukup untuk menghasilkan perubahan yang terukur, sehingga dalam rentang waktu yang terbatas, perubahan tersebut mungkin belum cukup signifikan untuk terdeteksi.^{56,57}

Hasil penelitian menunjukkan bahwa intensitas warna merah pada pewarnaan *Picro Sirius Red* mencerminkan kondisi struktur kolagen dalam jaringan kulit. Kelompok kontrol sehat menampilkan warna merah paling intens, menandakan jaringan kolagen yang padat dan utuh tanpa kerusakan. Sebaliknya, kelompok tikus yang hanya dipapar sinar UV tanpa perlakuan (K2) menunjukkan warna merah paling redup, yang menandakan terjadinya degradasi kolagen akibat stres oksidatif yang diinduksi oleh UV.

Kelompok perlakuan dengan krim retinol (K3) dan ekstrak daun bidara (K4) menunjukkan peningkatan intensitas warna merah dibandingkan K2, yang mengindikasikan efek protektif terhadap struktur kolagen. Retinol terbukti sedikit lebih efektif dalam mempertahankan kerapatan kolagen dibandingkan ekstrak daun bidara, seperti ditunjukkan oleh nilai densitas kolagen yang lebih tinggi. Hasil ini sejalan dengan mekanisme kerja retinol sebagai stimulan sintesis kolagen dan antioksidan kuat yang mampu menekan efek destruktif radikal bebas. Sementara, ekstrak daun bidara, meskipun tidak sekuat retinol, masih mampu memberikan perlindungan terhadap kolagen melalui kandungan antioksidan alaminya.

Densitas kolagen pada kelompok perlakuan (K3 dan K4) tetap tidak berbeda signifikan dibanding K1 (kontrol sehat), meskipun terlihat peningkatan proteksi dibanding K2 (paparan UVB tanpa perlakuan). Hal ini kemungkinan disebabkan oleh lamanya waktu penelitian yang hanya 14 hari, belum cukup untuk menunjukkan perubahan nyata dalam struktur matriks ekstraseluler—terlibatnya degradasi awal dan sintesis kolagen baru membuat perubahan densitas neto belum tampak dalam rentang waktu singkat.⁵⁹ Proses remodeling kolagen umumnya membutuhkan waktu lebih panjang agar perubahan komposisi dapat terukur secara statistik.

Paparan UVB diketahui menginduksi produksi ROS, yang kemudian mengaktifkan jalur MAPK/AP-1, lalu meningkatkan ekspresi MMP-1 guna memecah serat kolagen yang rusak.⁶⁰ Meskipun peningkatan ini merupakan bagian dari respons perbaikan jaringan, peningkatan non-signifikan pada K2

dibanding K1 mengindikasikan adanya aktivitas kompensasi repair dan regulasi enzim inhibitor (TIMP), terutama saat paparan UVB masih dalam fase awal.⁶⁰

Kelompok K4, peningkatan MMP-1 lebih nyata dibanding retinol (K3), walau tidak signifikan. Efek antioksidan dan antiinflamasi flavonoid, tanin, dan saponin dalam ekstrak bidara mereduksi ROS, sehingga jalur MAPK/AP-1 dapat berfungsi secara lebih optimal tanpa gangguan oksidatif yang berlebihan. Ekstrak ini juga dapat meningkatkan ekspresi faktor pertumbuhan seperti TGF- β dan VEGF, yang diketahui merangsang MMP-1 sebagai bagian dari proses remodeling dan angiogenesis.^{60,61}

Retinol, selain memacu produksi kolagen dan MMP-1, juga meningkatkan TIMP dan menekan AP-1 langsung sehingga lebih menstabilkan struktur kolagen. Sedangkan ekstrak bidara lebih mengandalkan efek antioksidan alami dan induksi faktor pertumbuhan untuk mempercepat proses perbaikan, walau efek protektifnya terhadap struktur kolagen sedikit lebih rendah dibanding retinol.⁵⁹

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian krim retinol (K3) memberikan efek perlindungan kolagen yang sedikit lebih baik dibandingkan krim ekstrak daun bidara 5% (K4), ditunjukkan oleh nilai densitas kolagen yang lebih tinggi dan intensitas warna merah yang lebih kuat pada pewarnaan Picro Sirius Red. Hal ini sejalan dengan mekanisme kerja retinol yang telah diketahui secara luas, yaitu merangsang proliferasi sel epidermis, meningkatkan sintesis kolagen, dan menekan ekspresi MMP-1 melalui

penghambatan jalur transduksi sinyal AP-1. Namun demikian, ekstrak daun bidara juga menunjukkan potensi protektif yang menjanjikan, meskipun dengan efektivitas yang sedikit lebih rendah dibanding retinol. Kandungan flavonoid, tanin, dan saponin dalam ekstrak bidara memiliki sifat antioksidan dan antiinflamasi yang dapat menetralkan radikal bebas akibat paparan sinar UVB, sehingga mengurangi degradasi kolagen dan mendukung remodeling jaringan.

Peningkatan kadar MMP-1 pada kelompok K4 dapat dijelaskan sebagai bagian dari mekanisme perbaikan jaringan, di mana ekstrak daun bidara merangsang aktivitas MMP-1 untuk menghancurkan kolagen yang telah rusak akibat stres oksidatif, sekaligus memicu regenerasi kolagen baru. Namun, kadar MMP-1 yang meningkat tetapi tidak diikuti oleh peningkatan signifikan pada densitas kolagen kemungkinan disebabkan oleh keseimbangan antara proses degradasi dan sintesis kolagen, serta durasi penelitian yang terbatas (14 hari), yang belum cukup untuk menghasilkan perubahan struktural yang bermakna secara histologis. Selain itu, kemungkinan lain adalah bahwa dosis ekstrak daun bidara sebesar 5% belum cukup optimal untuk memberikan efek protektif maksimal. Beberapa literatur menyarankan bahwa konsentrasi lebih tinggi, seperti 10–15%, dapat meningkatkan aktivitas biologis senyawa aktifnya secara signifikan.

Dengan demikian, meskipun krim ekstrak daun bidara menunjukkan efek protektif terhadap kerusakan kolagen akibat paparan UVB, efektivitasnya masih perlu ditingkatkan, baik melalui optimalisasi dosis,

perpanjangan waktu aplikasi, maupun penggunaan ekstrak yang telah distandarisasi kandungan zat aktif. Penelitian lanjutan dengan durasi lebih panjang dan variasi konsentrasi ekstrak diperlukan untuk mengevaluasi potensi maksimal daun bidara sebagai agen terapeutik alami yang sebanding atau bahkan lebih unggul dibanding retinol.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang penting untuk diperhatikan dalam interpretasi hasil dan perencanaan studi lanjutan. Pertama, durasi perlakuan yang relatif singkat (<21 hari) kemungkinan belum cukup untuk mengamati perubahan densitas kolagen secara signifikan. Studi sebelumnya menunjukkan bahwa remodeling kolagen dan diferensiasi jaringan kulit memerlukan waktu yang lebih panjang, yakni sekitar 28 hingga 56 hari, untuk menunjukkan perbedaan yang bermakna antara sintesis dan degradasi kolagen.⁶² Kelompok kontrol yang dipaparkan sinar UVB, tidak diberikan krim dasar tanpa bahan aktif (placebo). Hal ini berpotensi menjadi sumber bias karena bahan dasar krim itu sendiri dapat memiliki efek oklusif atau protektif yang tidak diantisipasi, sehingga dapat mengaburkan efek murni dari paparan UVB.⁶³

Penelitian ini hanya mengukur ekspresi MMP-1 tanpa melibatkan pengukuran TIMP-1, padahal keseimbangan antara matrix metalloproteinase dan tisu inhibitor-nya sangat penting dalam memahami dinamika degradasi dan inhibisi kolagen pada kulit.⁶³ Tanpa data TIMP-1, kesimpulan mengenai aktivitas proteolitik kolagen menjadi kurang komprehensif. Ekstrak daun bidara yang digunakan belum dianalisis kandungan senyawa aktif

spesifiknya, seperti profil polifenol atau flavonoid. Padahal, karakterisasi senyawa bioaktif penting untuk mengidentifikasi komponen utama yang bertanggung jawab terhadap efek biologis, seperti stimulasi faktor pertumbuhan atau MMP (Kumar et al., 2021). Tanpa informasi ini, efektivitas dan potensi aplikasi terapeutik dari ekstrak tidak dapat dioptimalkan secara ilmiah.⁶⁴



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. Pemberian krim ekstrak daun bidara (*Ziziphus Mauritiana*) berpengaruh terhadap kadar MMP-1, namun tidak berpengaruh terhadap densitas kolagen pada kulit tikus Wistar jantan (*Rattus Norvegicus*) yang dipapar sinar ultraviolet B.
2. Pemberian krim ekstrak daun bidara (*Ziziphus Mauritiana*) berpengaruh terhadap meningkatkan kadar MMP-1 pada kulit tikus Wistar jantan (*Rattus Norvegicus*) yang dipapar sinar ultraviolet B.
3. Pemberian krim ekstrak daun bidara (*Ziziphus Mauritiana*) tidak berpengaruh terhadap densitas kolagen pada kulit tikus Wistar jantan (*Rattus Norvegicus*) yang dipapar sinar ultraviolet B.

6.2. Saran

1. Disarankan memperpanjang durasi penelitian menjadi 28 hingga 56 hari agar dapat mengamati perubahan densitas kolagen secara signifikan serta membedakan efek kumulatif antara proses degradasi dan sintesis kolagen.
2. Kelompok kontrol UVB sebaiknya diberikan basis krim tanpa bahan aktif (placebo) untuk memastikan bahwa efek paparan UVB tidak terkompensasi oleh bahan pembawa, sehingga meningkatkan keakuratan perbandingan antar kelompok.

3. Pengukuran ekspresi TIMP-1 selain MMP-1 perlu dilakukan untuk memperoleh gambaran yang lebih komprehensif mengenai keseimbangan antara degradasi dan inhibisi kolagen, sehingga mekanisme proteksi jaringan kulit dapat dipahami dengan lebih jelas.
4. Analisis kandungan senyawa spesifik dalam ekstrak daun bidara, seperti profil polifenol dan flavonoid, sangat diperlukan untuk mengidentifikasi molekul aktif yang berperan dalam stimulasi MMP-1 atau faktor pertumbuhan, sehingga efektivitas ekstrak dapat dioptimalkan.



DAFTAR PUSTAKA

1. Mayangsari E, Mustika A, Nurdiana N, Samad NA. *Comparison of UVA vs UVB Photoaging Rat Models in Short-Term Exposure.*; 2024. <https://www.orcid.org/0000-0001-6461->
2. Ansary TM, Hossain MR, Kamiya K, Komine M, Ohtsuki M. Inflammatory molecules associated with ultraviolet radiation-mediated skin aging. *Int J Mol Sci.* 2021;22(8). doi:10.3390/ijms22083974
3. Fiter J, Putra Wiraguna A, Pangkahila W. *Pemberian Tempoyak per Oral Dapat Menghambat Peningkatan Ekspresi Matriks Metaloproteinase-1 Pada Tikus (Rattus Norvegicus) Betina Dewasa Galur Wistar Yang Dipajan Sinar UVB.*
4. Beckenbach L, Baron JM, Merk HF, Löffler H, Amann PM. Retinoid treatment of skin diseases. *European Journal of Dermatology.* 2015;25(5):384-391. doi:10.1684/ejd.2015.2544
5. Chen S, He Z, Xu J. Application of adipose-derived stem cells in photoaging: basic science and literature review. *Stem Cell Res Ther.* 2020;11(1):1-15. doi:10.1186/s13287-020-01994-z
6. Riska Nafiah S, Fitraneti E, Rizal Y, Primawati I, Hamama DA. *Scientific Journal.* <http://journal.scientic.id/index.php/sciena/issue/view/19>
7. Fitrianingsih S, Nurulin Nafi L, Ismah K. *Studi Literatur: Formulasi Krim Dari Bahan Alam Pada Aktivitas Antiaging.* <http://cjp.jurnal.stikescendekiautamakudus.ac.id>
8. Akhtar N, Ijaz S, Khan HMS, Uzair B, Khan BA, Khan BA. Ziziphus mauritiana leaf extract emulsion for skin rejuvenation. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* 2016;15(5):929-936. doi:10.4314/tjpr.v15i5.5
9. Sakka L, Muin R. Identifikasi Kandungan Senyawa Antioksidan Ekstrak Daun Bidara (Ziziphus mauritiana Lamk.) Dengan Menggunakan Metode DPPH. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research.* 2023;4(1). doi:10.37311/jsscr.v4i1.13518
10. Dwi Ardinimia S, Fadia Putri A, Mahendra Ramanda Putra Y, Putri Hasna

- Dzakiyyah N, Gianni Lumbu P. Indonesian Chemistry And Application Journal Review: Bioaktivitas Daun Bidara (*Ziziphus Mauritiana* Lamk.). 6(2).
11. Wahyudi W, Luthfia Putri Hsb H, Hasanah N, Al-Hafidz Sitorus R. *Studi Literatur: Daun Bidara (Ziziphus Mauritiana) Sebagai Herbal Indonesia Dengan Berbagai Kandungan Dan Efektivitas Farmakologi Literature Study: Bidara Leaves (Ziziphus Mauritiana) As Indonesian Herbs with Various Ingredients and Pharmacological Effectiveness*. Vol 9.
 12. Mardhiyani D, Rehulina M, Author C. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam) Dengan Metode Dpph Antioxidant Activity Ethanol Extract Of Bidara Leaf (*Ziziphus mauritiana* Lam) Type Using Dpph Method. *Jurnal Biologi dan Konservasi*. 2023;5(1).
 13. Shufyani F, Dominica D, Farmasi dan Kesehatan F, et al. Original Articel Journal Of Pharmaceutical And Sciences (Jps) Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus Mauritiana* Lam) Terhadap Pertumbuhan Streptococcus Mutans Antibacterial Activity Test Of Bidara (*Ziziphus Mauritiana* Lam) Ethanol Extract On Growth Of Streptococcus Mutans. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*.
 14. Karliana L. *Efektivitas Ekstrak Daun Bidara (Ziziphus Mauritiana) Dalam Penyembuhan Luka Iris Pada Mencit Jantan (Mus Musculus) Dan Implementasinya Sebagai Media Edukasi Kesehatan Masyarakat (Doctoral Dissertation,.,; 2018. <http://www.pesugihan.net/benarkah-daun-bidara-mampu-mengusir-jin.html>*
 15. Tenri Ugi Dg Pine Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar A. *Penentuan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bidara (Ziziphus Spina-Christi L.)*. Vol 1.; 2016.
 16. Treuting PM, Dintzis SM, Montine KS (Eds.). *Comparative Anatomy and Histology a Mouse, Rat, and Human Atlas*. Academic Press. Vol 18.; 2017.
 17. George VP. Histopathological Spectrum of Granulomatous Skin Lesions: A Review. *SBV Journal of Basic, Clinical and Applied Health Science*.

- 2019;2(3):95-104. doi:10.5005/jp-journals-10082-02215
18. Murlistyarini S, Dani AA. Peran Matriks Metaloproteinase (MMP) pada Proses Photoaging. *Journal of Dermatology, Venereology and Aesthetic*. 2022;3(1):13-22.
 19. Yusharyahya SN. Mekanisme Penuaan Kulit sebagai Dasar Pencegahan dan Pengobatan Kulit Menua. *eJournal Kedokteran Indonesia*. 2021;9(2):150. doi:10.23886/ejki.9.49.150
 20. Gu Y, Han J, Jiang C, Zhang Y. Biomarkers, oxidative stress and autophagy in skin aging. *Ageing Res Rev*. 2020;59. doi:10.1016/j.arr.2020.101036
 21. Gromkowska-Kępa KJ, Puścion-Jakubik A, Markiewicz-Żukowska R, Socha K. The impact of ultraviolet radiation on skin photoaging — review of in vitro studies. *J Cosmet Dermatol*. 2021;20(11):3427-3431. doi:10.1111/jocd.14033
 22. Kim JM, Kim S young, Noh EM, et al. Reversine inhibits MMP-1 and MMP-3 expressions by suppressing of ROS/MAPK/AP-1 activation in UV-stimulated human keratinocytes and dermal fibroblasts. *Exp Dermatol*. 2018;27(3):298-301. doi:10.1111/exd.13494
 23. Rinnerthaler M, Bischof J, Streubel MK, Trost A, Richter K. Oxidative stress in aging human skin. *Biomolecules*. 2015;5(2):545-589. doi:10.3390/biom5020545
 24. Dale Wilson B, Moon S, Armstrong F. *Comprehensive Review of Ultraviolet Radiation and the Current Status on Sunscreens*. Vol 5.; 2012. <http://www.bioscience.org/1997/v2/d/soehnge/3.htm>
 25. Freitas-Rodríguez S, Folgueras AR, López-Otín C. The role of matrix metalloproteinases in aging: Tissue remodeling and beyond. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*. 2017;1864(11):2015-2025. doi:10.1016/j.bbamcr.2017.05.007
 26. 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. *Food Science and Human Wellness*. 2022;11(2):218-229. doi:10.1016/j.fshw.2021.11.003

27. Tanveer MA, Rashid H, Tasduq SA. Molecular basis of skin photoaging and therapeutic interventions by plant-derived natural product ingredients: A comprehensive review. *Heliyon*. 2023;9(3). doi:10.1016/j.heliyon.2023.e13580
28. Ahmad Z. *Penuaan Kulit: Patofisiologi Dan Manifestasi Klinis (Skin Aging: Pathophysiology and Clinical Manifestation)*.
29. Tu Y, Quan T. Oxidative stress and human skin connective tissue aging. *Cosmetics*. 2016;3(3). doi:10.3390/cosmetics3030028
30. *Ultraviolet Radiation : An Authoritative Scientific Review of Environmental and Health Effects of UV, with Reference to Global*. World Health Organization; 1994.
31. D'Orazio J, Jarrett S, Amaro-Ortiz A, Scott T. UV radiation and the skin. *Int J Mol Sci*. 2013;14(6):12222-12248. doi:10.3390/ijms140612222
32. Pandel R, Poljšak B, Godic A, Dahmane R. Skin Photoaging and the Role of Antioxidants in Its Prevention. *ISRN Dermatol*. 2013;2013:1-11. doi:10.1155/2013/930164
33. Cavinato M, Waltenberger B, Baraldo G, Grade CVC, Stuppner H, Jansen-Dürr P. Plant extracts and natural compounds used against UVB-induced photoaging. *Biogerontology*. 2017;18(4):499-516. doi:10.1007/s10522-017-9715-7
34. Kawashima S, Funakoshi T, Sato Y, et al. Protective effect of pre- and post-vitamin C treatments on UVB-irradiation-induced skin damage. *Sci Rep*. 2018;8(1):1-12. doi:10.1038/s41598-018-34530-4
35. Oresajo C, Stephens T, Hino PD, et al. *Protective Effects of a Topical Antioxidant Mixture Containing Vitamin C, Ferulic Acid, and Phloretin against Ultraviolet-Induced Photodamage in Human Skin*. Vol 7.; 2008.
36. Faisal M, Juswono UP, Santoso DR. The dielectric properties of skin damage and its correlation to free radical intensity caused by UVA/UVB radiation impact. In: *Journal of Physics: Conference Series*. Vol 2165. IOP Publishing Ltd; 2022. doi:10.1088/1742-6596/2165/1/012053
37. Dewa I, Susilawati A. *Kajian Pustaka: Sumber Reactive Oxygen Species*

(ROS) Vaskular (Review: Vascular Sources of Reactive Oxygen Species).

38. Lestari G, Dharmayanti L, Giri Samudera A, Hadjiansyah Y, lestari E, Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu S. Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Bidara Arab (*Ziziphus Mauritiana* Lam) Sebagai Obat Luka Sayat Pada Kulit Kelinci Putih Jantan (*Oryctolagus Cuniculus*). *Journal of Pharmacy UMUS*. 2022;04(01):18-25.
39. Harfi TSP. *Pembuatan Buku Saku Panduan Pemakaian Retinol Untuk Mencegah Penuaan Bagi Pemula.*; 2022.
40. Hastiana Y, Handaiyani S, Agustin I. Test of Phytocemical Levels of Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) Potential as Medicinal Plants. *Mangifera Edu*. 2022;6(2):182-196. doi:10.31943/mangiferaedu.v6i2.128
41. Haeria H, Andi TU. *Penentuan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bidara (Ziziphus Spina-Christi L.)*. Vol 1.; 2016.
42. Widiartini W, Siswati E, Setiyawati A, et al. *Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Tersertifikas Dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboratorium*.
43. Al-Hajj DN, Algabr M, Rizwan Sharif H, et al. In Vitro and in Vivo Evaluation of Antidiabetic Activity of Leaf Essential Oil of *Pulicaria inuloides*-Asteraceae. *Journal of Food and Nutrition Research*. 2016;4(7):461-470. doi:10.12691/jfmr-4-7-8
44. Sihombing M, Laboratorium ST, Percobaan H, et al. *Perubahan Nilai Hematologi, Biokimia Darah, Bobot Organ Dan Bobot Badan Tikus Putih Pada Umur Berbeda*.
45. Wolfensohn Sarah, Lloyd Maggie. *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*. Wiley; 2008.
46. Mathew-steiner SS, Roy S, Sen CK. Collagen in wound healing. *Injury*. 1969;1(1):76. doi:10.1016/s0020-1383(69)80037-9
47. Amirrah IN, Lokanathan Y, Zulkiflee I, Wee MFMR, Motta A, Fauzi MB. A Comprehensive Review on Collagen Type I Development of Biomaterials for Tissue Engineering: From Biosynthesis to Bioscaffold. *Biomedicines*.

- 2022;10(9). doi:10.3390/biomedicines10092307
48. Al-Sadek T, Yusuf N. Ultraviolet Radiation Biological and Medical Implications. *Curr Issues Mol Biol.* 2024;46(3):1924-1942. doi:10.3390/cimb46030126
 49. Amala WN, Aziz RAZ, Rohmah N, Imtiyaz HN, Iskandar MDI, Purnama ER. In silico Exploration on The Potency of Basil (*Ocimum basilicum*) as an Anti-Aging Skin Agent. *Bioactivities.* 2023;1(2):61-73. doi:10.47352/bioactivities.2963-654x.193
 50. Feng C, Chen X, Yin X, Jiang Y, Zhao C. Matrix Metalloproteinases on Skin Photoaging. *J Cosmet Dermatol.* Published online 2024:3847-3862. doi:10.1111/jocd.16558
 51. Brennan M, Bhatti H, Nerusu KC, et al. Matrix Metalloproteinase-1 is the Major Collagenolytic Enzyme Responsible for Collagen Damage in UV-irradiated Human Skin. *Photochem Photobiol.* 2003;78(1):43. doi:10.1562/0031-8655(2003)078<0043:mmmitmc>2.0.co;2
 52. Zasada M, Budzisz E. Retinoids: Active molecules influencing skin structure formation in cosmetic and dermatological treatments. *Postepy Dermatol Alergol.* 2019;36(4):392-397. doi:10.5114/ada.2019.87443
 53. Philips N, Auler S, Hugo R, Gonzalez S. Beneficial regulation of matrix metalloproteinases for skin health. *Enzyme Res.* 2011;2011(1). doi:10.4061/2011/427285
 54. Kandhwal M, Behl T, Singh S, et al. Role of matrix metalloproteinase in wound healing. *Am J Transl Res.* 2022;14(7):4391-4405. www.ajtr.org
 55. Topol H, Demirkoparan H, Pence TJ. Modeling stretch-dependent collagen fiber density. *Mech Res Commun.* 2021;116:103740. doi:10.1016/j.mechrescom.2021.103740
 56. Potekaeve NN, Borzykh OB, Medvedev G V., et al. Genetic and epigenetic aspects of skin collagen fiber turnover and functioning. *Cosmetics.* 2021;8(4). doi:10.3390/cosmetics8040092
 57. Ouyang Z, Dong L, Yao F, et al. Cartilage-Related Collagens in Osteoarthritis and Rheumatoid Arthritis: From Pathogenesis to Therapeutics.

- Int J Mol Sci.* 2023;24(12). doi:10.3390/ijms24129841
58. Mukherjee S, Date A, Patravale V, Korting HC, Roeder A, Weindl G. Retinoids in the treatment of skin aging: an overview of clinical efficacy and safety. *Clin Interv Aging.* 2006;1(4):327-348. doi:10.2147/ciia.2006.1.4.327
 59. Anggraeny C, Wiraguna AAGP, Pinatih GNI. Bidara leaf extract (*Ziziphus mauritiana*) inhibits Metalloproteinase-1 increase and collagen decrease in female Wistar rat skin exposed to Ultraviolet-B and cigarette smoke. *Neurologico Spinale Medico Chirurgico.* 2021;4(3):125-129. doi:10.36444/nsmc.v4i3.178
 60. Shady NH, Soltane R, Maher SA, et al. Modeling Study. Published online 2022.
 61. Mohiuddin AK. Skin Aging & Modern Age Anti-aging Strategies. *Glob J Med Res.* 2019;7(4):15-60. doi:10.34257/gjmrbvol19is2pg15
 62. Zhou P, Yang C, Zhang S, et al. The Imbalance of MMP-2/TIMP-2 and MMP-9/TIMP-1 Contributes to Collagen Deposition Disorder in Diabetic Non-Injured Skin. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12(October):1-11. doi:10.3389/fendo.2021.734485
 63. Abdulrahman MD, Zakariya AM, Hama HA, et al. Ethnopharmacology, Biological Evaluation, and Chemical Composition of *Ziziphus spina - Christi* (L.) Desf.: A Review. *Adv Pharmacol Pharm Sci.* 2022;2022. doi:10.1155/2022/4495688