

**PENGARUH PEMBERIAN EMULGEL EKSTRAK
CALENDULA (*Calendula Officinalis. L*) TERHADAP KADAR
MMP-1 DAN MMP-9**

**(Studi Experimental Pada Model Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi
Paparan Sinar UV-B)**

TESIS

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

**Nadhilla Nurayu Lathifa
MBK. 24.23.010456**

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

2025

TESIS
PENGARUH PEMBERIAN EMULGEL EKSTRAK CALENDULA
(*Calendula Officinalis. L*) TERHADAP KADAR MMP-1 DAN MMP-9
(Studi Experimental Pada Model Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi
Paparan Sinar UV-B)

Disusun oleh

Nadhilla Nurayu Lathifa

MBK. 24.23.010456

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji

Kamis, 28 Agustus 2025

dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II


Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes


Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan Sp.

D.V.E., Subsp.D.K.E, FINS DV, FAADV

NIK.210198046

NIK.8951110021

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung



Dr. dr. Eko Setiawan, SpB. FINACS

NIP.210.123.106

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Nadhilla Nurayu Lathifa

Tempat / Tanggal lahir : Jakarta, 21 Nov 1991

Agama : Islam

Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK Al-Azhar : Lulus tahun 1998
2. SD Al-Azhar Pusat 01 : Lulus tahun 2004
3. SMP Al-Azhar Pusat 01 : Lulus tahun 2006
4. SMA International Islamic Boarding School : Lulus tahun 2008
5. S1 Pendidikan Dokter Universitas Trisakti : Lulus tahun 2015
6. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : (2024 – sekarang)

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Suami : dr. Riski Amanda Sp.N-FINA
2. Nama Anak : - Arkha Alfatih Putramandala

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah puji syukur terpanjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia dan ridho-NYA, sehingga proposal tesis dengan judul **PENGARUH PEMBERIAN EMULGEL EKSTRAK CALENDULA (*Calendula Officinalis. L*) TERHADAP KADAR MMP-1 DAN MMP-9 (Studi Experimental Pada Model Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi Paparan Sinar UV-B)** ini dapat penulis selesaikan.

Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Magister Biomedik di program studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan menghaturkan terima kasih yang sebesar-besarnya, kepada:

1. Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Prof. Dr. H. Gunarto, SH, MH.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak DR. dr. H. Setyo Trisnadi Sp.KF. SH.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr.dr. Eko Setiawan, Sp.B
4. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes atas bimbingan, arahan dan waktu yang telah diluangkan kepada penulis untuk berdiskusi selama menjadi dosen pembimbing pertama.

5. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan Sp. D.V.E., Subsp.D.K.E selaku dosen pembimbing kedua yang memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.
6. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, yang telah memberikan arahan dan bimbingan untuk mendalami ilmu Biomedik.
7. Suami tersayang dr. Riski Amanda Sp.N-FINA, anakku ananda Arkha, orangtua yang selalu mendukung saya sepenuhnya ibu Nunik dan pak Djajo, dan adikku Salsa.
8. Segenap staf administrasi progam Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
9. Kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Dengan keterbatasan pengalaman, ilmu maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan dan pengembangan lanjut agar benar benar bermanfaat. Oleh sebab itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar proposal tesis ini lebih sempurna serta sebagai masukan bagi penulis untuk penelitian dan penulisan karya ilmiah di masa yang akan datang.

Akhir kata, penulis berharap tesis ini memberikan manfaat bagi kita semua terutama untuk pengembangan ilmu pengetahuan yang ramah lingkungan.

Semarang, 25 April 2025

Penulis
(Thifa)

ABSTRAK

Latar Belakang: Paparan sinar UV-B menyebabkan kerusakan kulit melalui stres oksidatif, inflamasi, dan degradasi matriks ekstraseluler, yang mempercepat penuaan kulit. *Calendula officinalis* L., dengan sifat antiinflamasi dan antioksidan, berpotensi mempercepat penyembuhan luka dan meningkatkan kualitas kulit yang rusak akibat UV-B. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh emulgel ekstrak Calendula terhadap kadar MMP-1 dan MMP-9 pada tikus Wistar yang terpapar UV-B.

Metode: Penelitian ini menggunakan model eksperimen dengan desain *post-test only control group* menggunakan 24 ekor tikus Wistar jantan yang dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan emulgel ekstrak calendula 10%, dan 20%. Paparan sinar UV-B dilakukan selama 14 hari, diikuti dengan pengolesan emulgel setiap hari selama 14 hari. Pada hari ke-15, sampel darah diambil untuk mengukur kadar MMP-1 dan MMP-9 menggunakan teknik ELISA.

Hasil: Emulgel ekstrak calendula 20% menghasilkan kadar MMP-1 tertinggi sebesar $4,788 \pm 0,360$ ng/mL. Semua kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol sehat, namun emulgel calendula 10% dan 20% tidak menunjukkan perbedaan signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif. Untuk kadar MMP-9, ekstrak calendula 20% menghasilkan kadar tertinggi sebesar $1,228 \pm 0,166$ ng/mL, diikuti oleh ekstrak calendula 10% dengan kadar $1,260 \pm 0,114$ ng/mL. Meskipun demikian, tidak ada perbedaan yang signifikan antara seluruh kelompok ($p=0,104$).

Kesimpulan: Pemberian emulgel ekstrak calendula tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap kadar MMP-1 dan MMP-9 dibandingkan kontrol negatif pada tikus Wistar yang terpapar UV-B.

Kata Kunci: Emulgel Calendula, MMP-1, MMP-9, paparan UV-B, regenerasi kulit, tikus Wistar.

ABSTRACT

Background: UV-B radiation causes skin damage through oxidative stress, inflammation, and degradation of the extracellular matrix, accelerating skin aging. *Calendula officinalis* L., with its anti-inflammatory and antioxidant properties, has the potential to accelerate wound healing and improve the quality of skin damaged by UV-B. This study aims to analyze the effect of Calendula extract emulgel on MMP-1 and MMP-9 levels in UV-B-exposed Wistar rats.

Methods: This study used an experimental post-test only control group design with 24 male Wistar rats divided into 4 groups: negative control, positive control, 10% Calendula emulgel treatment, and 20% Calendula emulgel treatment. UV-B exposure was administered for 14 days, followed by daily emulgel application for 14 days. On day 15, blood samples were collected to measure MMP-1 and MMP-9 levels using the ELISA technique.

Results: The 20% Calendula extract emulgel resulted in the highest MMP-1 level at 4.788 ± 0.360 ng/mL. All treatment groups showed significant differences compared to the healthy control group, but the 10% and 20% Calendula emulgel did not show significant differences compared to the negative control. For MMP-9 levels, the 20% Calendula extract resulted in the highest level at 1.228 ± 0.166 ng/mL, followed by the 10% Calendula extract at 1.260 ± 0.114 ng/mL. However, no significant differences were observed among all groups ($p=0.104$).

Conclusion: The administration of Calendula extract emulgel did not have a significant effect on MMP-1 and MMP-9 levels compared to the negative control in UV-B-exposed Wistar rats.

Keywords: Calendula Emulgel, MMP-1, MMP-9, UV-B exposure, skin regeneration, Wistar rats.

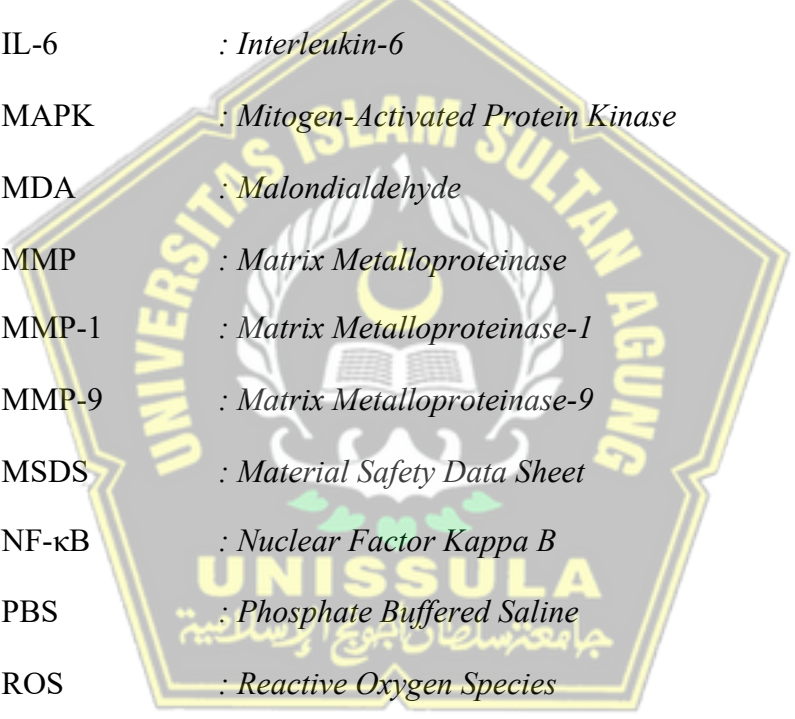
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
RIWAYAT HIDUP	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.4.1 Manfaat Teoritis	3
1.4.2 Manfaat Praktis	3
1.5 Originalitas Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 <i>Matriks Metaloproteinase (MMP)</i>	8
2.1.1 Definisi MMP	8
2.1.2 Klasifikasi MMP	9
2.2 MMP-1 (Matrix Metalloproteinase-1)	11
2.2.1 Definisi	11
2.2.2 Jalur Aktivasi MMP-1	13

2.3 MMP-9 (Matriks metalloproteinase-9).....	15
2.3.1 Definisi	15
2.4 Calendula Officinalis. L.....	18
2.4.1 Klasifikasi Taksonomi Calendula	19
2.4.2 Senyawa Aktif Calendula	19
2.4.3 Aktivitas Farmakologi	20
2.4 Histologi Kulit	22
2.5 Mekanisme Degradasi Kolagen dan Elastin oleh Paparan UV	23
2.6 Efektivitas Calendula dalam Mengatasi Dampak Paparan UV	24
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	27
3.1 Kerangka Teori	27
3.2 Kerangka Konsep	30
3.3 Hipotesis Penelitian	30
BAB IV METODE PENELITIAN	31
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	31
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	32
4.2.1 Populasi Penelitian	32
4.2.2 Sampel Penelitian	32
4.2.3 Kriteria Inklusi	33
4.2.4 Kriteria Eksklusi	34
4.2.5 Kriteria <i>Drop Out</i>	34
4.3 Variabel dan Definisi Operasional	34
4.3.1 Variabel	34
4.3.2 Definisi Operasional	34
4.4 Alat dan Bahan	36
4.4.1 Alat	36
4.4.2 Bahan	37
4.5 Cara Penelitian	38
4.5.1 Permohonan Ethical Clearance	38
4.5.2 Persiapan Tikus	38

4.5.3 Pembuatan Ekstrak Bunga <i>Calendula officinalis</i> . L	38
4.5.4 Pembuatan Basis Emulgel.....	39
4.5.5 Pencampuran Ekstrak ke Dalam Basis Emulgel	40
4.5.6 Penentuan Dosis Ekstrak	40
4.5.7 Induksi <i>Photodamaged</i> dengan Sinar UV	41
4.5.8 Analisis Kadar MMP-1 dan MMP-9	42
4.6 Alur Penelitian	43
4.7 Tempat dan Waktu Penelitian	44
4.8 Analisis Data.....	44
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	45
5.1 Hasil Penelitian	45
5.1.1 Gambaran Makroskopis pada Paparan UV-B Antar Kelompok	46
5.1.2 Hasil Pemeriksaan Kadar MMP-1 pada Darah	50
5.1.3 Hasil Pemeriksaan Kadar MMP-9 pada Darah	53
5.2 Pembahasan	57
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	64
6.1 Kesimpulan.....	64
6.2 Saran	64
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN	70

DAFTAR SINGKATAN



COA	: <i>Certificate of Analysis</i>
ECM	: <i>Extracellular Matrix</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
GSH	: <i>Glutathione</i>
IL-1 β	: <i>Interleukin-1 Beta</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
MMP	: <i>Matrix Metalloproteinase</i>
MMP-1	: <i>Matrix Metalloproteinase-1</i>
MMP-9	: <i>Matrix Metalloproteinase-9</i>
MSDS	: <i>Material Safety Data Sheet</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor Kappa B</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	: <i>Superoxide Dismutase</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor-Beta</i>
UV	: <i>Ultraviolet</i>
UV-A	: <i>Ultraviolet A</i>
UV-B	: <i>Ultraviolet B</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian.....	4
Tabel 2.1 Klasifikasi MMP dan peranannya dalam photoaging.....	10
Tabel 4.1 Formula Emulgel Ekstrak Calendula	40
Tabel 5.1 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar MMP-1 dan One Way ANOVA.....	50
Tabel 5.2 Hasil Uji Post Hoc Tukey HSD setelah Perlakuan terhadap Rata-rata Kadar MMP-1	51
Tabel 5.3 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar MMP-9 dan One Way ANOVA.....	533



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Akumulasi Kolagen MMP ⁵	9
Gambar 2.2 Mekanisme Kerja MMP ¹⁵	12
Gambar 2.3 Aktivasi dan Pelepasan MMP-9 oleh Neutrofil ²⁴	17
Gambar 2.4 Bunga Calendula (<i>Calendula Officinalis. L</i>) ²⁵	19
Gambar 2.5 Stuktur Calendula ²⁶	20
Gambar 2.6 Lapisan Kulit Epidermis ²³	23
Gambar 2.7 Molekuler ROS pada Kulit ²⁹	25
Gambar 3.1 Kerangka Teori.....	30
Gambar 3.2 Kerangka Konsep	30
Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian	31
Gambar 4.2 Alur Penelitian.....	43
Gambar 5.1 Tikus Sehat.....	47
Gambar 5.2 Kulit Punggung Tikus Setelah Paparan UVB pada Hari ke-1, 5, 7, 9, 11, 14. (K2) Tikus dengan paparan UVB + base emulgel; (K3) Tikus dengan paparan UVB + emulgel Calendula 10%; (K4) Tikus dengan paparan UVB + emulgel Calendula 10%	48
Gambar 5.3 Diagram Batang Kadar MMP-9 pada Tiap Kelompok.	483
Gambar 5.4 Boxplot Distribusi Kadar MMP-9.....	486

LAMPIRAN

1. Ethical Clearance.....	70
2. Lampiran coA ekstrak calendula dari PT INBI.....	71
4. Dokumentasi Penelitian.....	73
5. Surat Hasil Pemeriksaan ELISA	75
6. Hasil SPSS.....	77



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Paparan sinar ultraviolet B (UV-B) merupakan salah satu faktor lingkungan utama yang berkontribusi terhadap kerusakan kulit, baik secara akut maupun kronis. Sinar UV-B menembus epidermis dan menyebabkan stres oksidatif, inflamasi, serta degradasi matriks ekstraseluler yang berdampak pada penurunan fungsi dan struktur jaringan kulit. Efek ini tidak hanya mempercepat proses penuaan kulit (*photoaging*), tetapi juga memperlambat proses penyembuhan luka dan meningkatkan risiko gangguan dermatologis kronis.^{1,2}

Permasalahan ini menjadi semakin signifikan mengingat tingginya prevalensi penyakit kulit akibat radiasi sinar UV. WHO melaporkan pada 2022 terdapat 331.722 kasus kerusakan kulit secara global.³ Hingga kini masih terbatas terapi alami yang terbukti secara ilmiah efektif dalam menangani kerusakan kulit akibat UV-B. Sebagian besar terapi masih bergantung pada senyawa kimiawi yang memiliki keterbatasan dalam hal efek samping dan keberlanjutan.^{1,4} Oleh karena itu, pengembangan terapi topikal berbahan dasar alami menjadi salah satu fokus penting dalam dunia dermatologi eksperimental.

Paparan sinar ultraviolet B (UV-B) pada kulit menginduksi produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang berperan sebagai pemicu utama stres oksidatif, merusak DNA, serta mengaktivasi jalur transduksi sinyal *Mitogen-*

Activated Protein Kinase (MAPK), khususnya *Extracellular Signal-Regulated Kinase* (ERK), *c-Jun N-terminal Kinase* (JNK), dan p38. Aktivasi jalur ini memfasilitasi fosforilasi protein c-Jun dan peningkatan ekspresi c-Fos yang kemudian membentuk kompleks faktor transkripsi AP-1. Bersamaan, ROS juga mengaktifkan jalur *Nuclear Factor Kappa B* (NF- κ B) melalui degradasi *Inhibitor of kappa B* (I κ B), memungkinkan NF- κ B berpindah ke nukleus dan menginduksi ekspresi gen inflamasi. AP-1 dan NF- κ B secara sinergis meningkatkan transkripsi gen *Matrix Metalloproteinase-1* (MMP-1) dan *Matrix Metalloproteinase-9* (MMP-9), yaitu enzim yang bertanggung jawab atas degradasi kolagen dan komponen matriks ekstraseluler lainnya. Hasilnya, terjadi kerusakan struktur dermis, penurunan elastisitas kulit, serta inflamasi kronis yang mempercepat proses penuaan kulit atau *photoaging*.⁵

Salah satu pendekatan alami yang berpotensi sebagai solusi adalah penggunaan ekstrak bunga *Calendula officinalis* L. Tanaman ini dikenal memiliki aktivitas antiinflamasi, antioksidan, dan penyembuh luka melalui kandungan flavonoid, triterpenoid, serta karotenoid. Beberapa studi menunjukkan bahwa *Calendula officinalis* L. mampu menurunkan ekspresi MMP-1 dan MMP-9, mempercepat penyembuhan luka, serta meningkatkan kualitas jaringan kulit yang rusak akibat UV-B.^{3,5} Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis* terhadap kadar MMP-1 dan MMP-9 pada tikus Wistar yang diinduksi dengan paparan sinar UV-B.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis. L* dapat mempengaruhi kadar MMP-1 dan MMP-9 pada kulit tikus Wistar jantan yang diinduksi paparan sinar UV-B?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menganalisis pengaruh pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis. L* terhadap kadar MMP-1 dan MMP-9 pada tikus Wistar jantan yang diinduksi paparan sinar UV-B.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis pengaruh pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis. L* dengan konsentrasi 10% terhadap kadar MMP-1 dan MMP-9 pada darah tikus yang terpapar sinar UV-B.
2. Menganalisis pengaruh pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis. L* dengan konsentrasi 20% terhadap kadar MMP-1 dan MMP-9 pada darah tikus yang terpapar sinar UV-B.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Menambah wawasan dan literatur mengenai efek anti penuaan dan sifat penyembuhan dari *Calendula officinalis. L* dalam sediaan emulgel.

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Emulgel ekstrak calendula digunakan untuk merancang produk perawatan kulit yang lebih efektif, yang berpotensi untuk

memperbaiki kulit dari kerusakan akibat UV-B, serta mempercepat penyembuhan luka.

2. Dapat direkomendasikan sebagai terapi topikal dalam menjaga kesehatan dan penampilan kulit, serta meningkatkan kesadaran tentang pentingnya perlindungan dari sinar UV-B.

1.5 Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

Peneliti	Judul Penelitian	Metode	Hasil
Bela <i>et al.</i> (2022)	<i>Calendula officinalis</i> Phytochemicals for the Treatment of Wounds Through Matrix Metalloproteinases-8 and 9 (MMP-8 and MMP-9): In Silico Approach	Uji in vitro dengan molecular docking dan molecular dynamics simulation pada senyawa aktif dari calendula terhadap enzim MMP-8 dan MMP-9.	Senyawa <i>quercetin</i> , <i>isoquercetin</i> , <i>isorhamnetin</i> , dan <i>isorhamnetin-3-O-glycoside</i> pada calendula menunjukkan afinitas tinggi terhadap MMP-8 dan MMP-9, melampaui inhibitor RND-336. ⁶
Rezai <i>et al.</i> (2023)	<i>Effect of Calendula officinalis</i> of oral on second-degree burn wound healing.	Uji in vivo dengan eksperimental pada tikus, evaluasi penyembuhan luka.	Calendula menunjukkan peningkatan signifikan dalam penyembuhan luka dan pengurangan MMP-9. ⁷
Khotimah <i>et al.</i> (2023)	<i>Pengaruh Ekstrak Calendula Officinalis Terhadap Lama Penyembuhan Luka Sayat Pada Tikus Putih.</i>	Uji in vivo eksperimental laboratorium dengan desain <i>posttest-only control group</i> .	Gel calendula dengan konsentrasi 10% terbukti paling efektif dalam aktivitas MMP-1 dan MMP-9. ⁸
Venkatesh <i>et al.</i> (2023)	<i>In Vitro Evaluation of Antioxidant and Antiinflammatory Potentials of Herbal Formulation</i>	Uji in vitro dilakukan untuk menilai kemampuan ekstrak teh	Ekstrak teh bunga calendula menunjukkan aktivitas antioksidan (85%) dan antiinflamasi (80%), pada konsentrasi

	Containing Marigold Flower (<i>Calendula officinalis</i> L.) Tea	calendula dalam menghambat denaturasi protein, aktivitas enzim protease (trypsin), dan menangkap radikal bebas dengan uji antioksidan	rendah (10–20 μ L), berpotensi mencegah <i>photoaging</i> dengan menghambat radikal bebas dan peradangan akibat paparan sinar UV. ⁹
Rohmani et al. (2024)	Formulation and Activity of Sunscreen Cream from Ethanol Extract of <i>Calendula Officinalis</i> L. Flowers	Uji <i>in vitro</i> dan <i>in vivo</i> untuk menilai efektivitas <i>sunscreen</i> ekstrak calendula yang di maserasi etanol 70%,	<i>Sunscreen</i> dengan ekstrak calendula 10% terbukti paling optimal dalam membantu menghambat proses <i>photoaging</i> akibat paparan sinar UV-B. ¹⁰

Berdasarkan tabel 1.1 dalam studi Bela *et al.* (2022) secara melakukan pengujian secara *in vitro* pada ekstrak calendula dengan menggunakan molecular docking dan molecular dynamics simulation terhadap senyawa aktif dari *Calendula officinalis* terhadap enzim MMP-8 dan MMP-9. Penelitian yang akan dilakukan pengujian secara *in vivo* pada ekstrak calendula yang di formulasikan dalam sediaan emulgel dan menggunakan hewan model tikus Wistar.⁶ Kemudian, studi lain Rezai *et al.* (2023) menggunakan tikus sebagai model *in vivo* yang diberikan ekstrak calendula secara oral. Penelitian yang akan dilakukan menggunakan sediaan emulgel, dengan ekstrak calendula 10% dan 20% secara *in vivo* pada tikus Wistar jantan dan mengukur kadar MMP-1 dan MMP-9 sebagai biomarker spesifik.⁷

Studi lain yang dilakukan Khotimah *et al.* (2023) melakukan pengujian secara *in vivo* ekstrak calendula yang diformulasikan dengan sediaan salep

pada tikus putih dengan konsentrasi ekstrak calendula 10%, 15%, dan 25%. Penelitian yang dilakukan menggunakan ekstrak calendula 10% dan 20% yang diformulasikan dalam sediaan emulgel, dengan pengujian secara *in vivo* yang mengukur kadar biomarker spesifik MMP-1 dan MMP-9.⁸ Selanjutnya, penelitian yang dilakukan Venkatesh *et al.* (2023) melakukan uji secara *in vitro* ekstrak teh bunga calendula untuk sediaan oral pada enzim protease (trypsin) dan menguji antioksidan dari ekstrak tersebut. Sedangkan, penelitian yang akan dilakukan menggunakan desain penelitian secara *in vivo* dan biomarker spesifik yaitu MMP-1 dan MMP-9, dengan ekstrak calendula yang diformulasikan secara topikal dalam bentuk emulgel.⁹

Sedangkan, penelitian Rohmani *et al.* (2024) melakukan studi *in vitro* terhadap krim calendula 10% menunjukkan efektivitas maksimal dalam melindungi kulit dari paparan sinar UV, sementara uji *in vivo* memberikan efek perlindungan tambahan terhadap timbulnya eritema akibat UV-B. Penelitian ini dirancang untuk menggunakan sediaan emulgel Calendula dengan konsentrasi 10% dan 20% secara *in vivo* pada tikus Wistar, dengan fokus pengukuran pada biomarker spesifik MMP-1 dan MMP-9.¹⁰

Berbagai penelitian telah membuktikan bahwa ekstrak calendula efektif menurunkan biomarker inflamasi akibat paparan sinar UV-B. Studi sebelumnya menggunakan berbagai bentuk sediaan seperti oral, krim, dan salep, serta melibatkan model uji *in vitro* dan *in vivo*. Penelitian yang akan dilaksanakan bertujuan menguji efektivitas emulgel calendula dengan konsentrasi 10% dan 20% secara *in vivo* pada tikus jantan galur Wistar, dengan

fokus analisis pada biomarker spesifik MMP-1 dan MMP-9 untuk mengevaluasi aktivitas antiinflamasi dan perlindungan terhadap *photoaging*.



BAB II

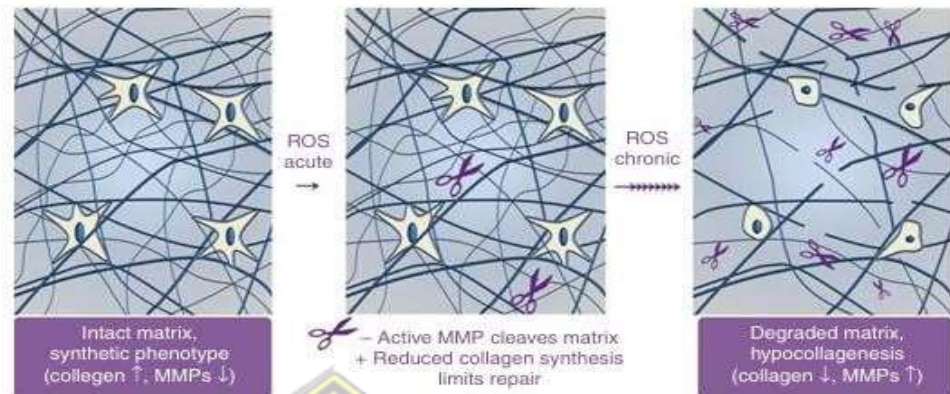
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Matriks Metaloproteinase (MMP)*

2.1.1 Definisi MMP

Matriks metaloproteinase (MMP) merupakan keluarga enzim yang berfungsi mendegradasi komponen matriks ekstraseluler, seperti kolagen, elastin, fibronektin, laminin, dan proteoglikan. Proses *remodeling* matriks ekstraseluler yang tidak teratur dapat memicu proliferasi dan invasi sel serta perkembangan jaringan. Aktivitas katalitik MMP dipengaruhi oleh ion Zn^{2+} dan Ca^{2+} sebagai kofaktor pada sisi katalitik enzim, dengan Zn^{2+} berperan dominan sehingga MMP digolongkan sebagai *membrane-bound zinc-dependent endopeptidase*. Secara fisiologis, sekresi MMP berfungsi dalam proses regenerasi, *remodeling* jaringan, embriogenesis, angiogenesis, dan penyembuhan luka.¹¹

Eksresi MMP diinduksi dan diaktifkan setelah kulit terpapar sinar UV dan terbentuk ROS. Kemudian stres oksidatif meningkatkan regulasi MMP termasuk MMP-1, MMP-3, MMP-9, dan MMP-13 melalui pengikatan AP-1 ke MMP. Sitokin proinflamasi dapat meningkatkan regulasi MMP sekaligus menurunkan serat elastin dan kolagen dermal. Peningkatan MMP mengakibatkan degradasi matriks ekstraseluler (ECM), penurunan produksi kolagen, serta berkurangnya biosintesis prokolagen.⁵



Gambar 2.1 Akumulasi Kolagen MMP⁵

Pada Gambar 2.1 menunjukkan akumulasi kolagen MMP, pada kondisi normal, ECM berada dalam keadaan utuh dengan fenotipe sintetik, di mana produksi kolagen tinggi dan aktivitas MMP rendah, sehingga mendukung stabilitas jaringan dan proses regenerasi. Namun, ketika terjadi paparan ROS akut, MMP menjadi aktif dan memotong komponen ECM, yang menyebabkan kerusakan matriks. Pada tahap ini, sintesis kolagen menurun, sehingga kemampuan ECM untuk memperbaiki diri menjadi terbatas. Jika paparan ROS berlanjut secara kronis, kerusakan ECM akan semakin parah. Matriks menjadi terdegradasi, ditandai dengan penurunan produksi kolagen (*hypocollagenesis*) dan peningkatan aktivitas MMP. Kondisi ini menyebabkan hilangnya struktur dan fungsi ECM, yang dapat memicu gangguan regenerasi jaringan serta perkembangan penyakit degeneratif.⁵

2.1.2 Klasifikasi MMP

MMP diklasifikasikan ke dalam lima subkelompok utama, yaitu :

1. *Kolagenase* (MMP-1, MMP-8 dan MMP-13)
2. *Gelatinase* (MMP-2 dan MMP-9)
3. *Stromelysin* (MMP-3, MMP-10 dan MMP-11)
4. *Matrilysin* (MMP-7 dan MMP-26)
5. MMP tipe membran (MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24 dan MMP-25). Beberapa MMP yang tidak termasuk dalam subkelompok utama dikategorikan sebagai MMP tipe lain.

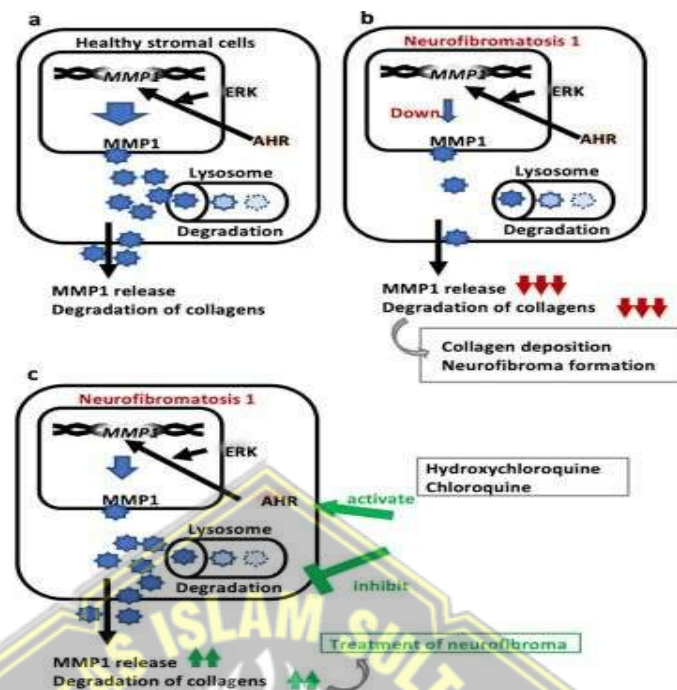
Tabel 2.1 Klasifikasi MMP dan peranannya dalam photoaging¹²

Subkelompok MMP	Nomor MMP	Peran dalam Photoaging
Kolagenase	MMP-1	Degradasi kolagen tipe I dan III Peran terbatas
	MMP-8	Peran terbatas
	MMP-13	Peran terbatas
Gelatinase	MMP-2	Degradasi kolagen tipe IV
	MMP-9	Degradasi kolagen tipe IV, Elastin
Stromelysin	MMP-3	Degradasi kolagen tipe I Aktivasi MMP-1, MMP-7, MMP-9
	MMP-10	Aktivasi pro MMP
	MMP-11	-
Matrilysin	MMP-7	Degradasi Elastin
	MMP-26	-
Tipe Membran	MMP-14	
	MMP-15	
	MMP-16	
	MMP-17	
	MMP-24	
Tipe Lain	MMP-12	Degradasi Elastin
	MMP-19	-
	MMP-20	-
	MMP-21	
	MMP-22	
	MMP-23	
	MMP-28	

2.2 MMP-1 (Matrix Metalloproteinase-1)

2.2.1 Definisi

Matrix Metalloproteinase-1 (MMP-1) merupakan salah satu anggota utama dari keluarga protein *metalloproteinase* yang berperan dalam degradasi matriks ekstraseluler, terutama kolagen tipe I.¹³ Protein ini memiliki berat molekul sekitar 54 kDa, menjadikannya salah satu protein dengan ukuran yang relatif besar. Secara kimiawi, MMP-1 adalah enzim proteolitik yang memerlukan keberadaan ion logam, seperti ion seng (Zn^{2+}), untuk menjalankan aktivitas katalitiknya.¹⁴ Sebagai bagian dari kelompok MMP, MMP-1 berperan dalam menjaga homeostasis jaringan dengan mengatur proses remodeling matriks ekstraseluler. Aktivitas MMP-1 berkontribusi pada berbagai proses fisiologis, seperti penyembuhan luka, angiogenesis, dan remodeling jaringan, namun juga terkait dengan berbagai kondisi patologis, seperti arthritis, kanker, dan penyakit kardiovaskular.¹⁵



Gambar 2.2 Mekanisme Kerja MMP¹⁵

Gambar 2.2 menunjukkan mekanisme kerja MMP-1, dimana panel (a), menunjukkan sel stromal sehat di mana MMP1 (*matrix metalloproteinase 1*) dilepaskan untuk mendegradasi kolagen. Proses ini melibatkan aktivasi *Extracellular Signal-Regulated Kinase* (ERK) dan *Aryl Hydrocarbon Receptor* (AHR), yang memfasilitasi degradasi kolagen yang lebih efektif melalui lisosom. Panel (b) menggambarkan sel dengan neurofibromatosis 1, di mana terjadi penurunan aktivitas MMP1 yang mengarah pada penurunan degradasi kolagen. Hal ini menyebabkan penumpukan kolagen, yang berperan dalam pembentukan neurofibroma. Panel (c) memperlihatkan efek dari pengobatan pada neurofibromatosis 1, di mana penggunaan hidrosiklorokuin dan klorokuin dapat mengaktifkan dan menghambat jalur tertentu, seperti pengaturan MMP1, untuk

meningkatkan atau menurunkan degradasi kolagen. Terapi ini bertujuan untuk mengurangi pembentukan neurofibroma dengan memperbaiki jalur pengaturan kolagen.¹⁵

Sel-sel yang mensekresikan MMP-1 termasuk fibroblas, keratinosit, serta sel-sel inflamasi seperti makrofag. Di bawah stimulus tertentu, seperti paparan sinar ultraviolet atau sitokin pro-inflamasi, sel-sel ini dapat meningkatkan produksi dan sekresi MMP-1 sebagai bagian dari respons inflamasi atau proses penyembuhan. Namun, ketidakseimbangan dalam regulasi produksi MMP-1 dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan perubahan patologis dalam matriks ekstraselular, yang kemudian dapat berkontribusi pada perkembangan berbagai penyakit, termasuk arthritis, fibrosis, dan kanker.¹⁶

2.2.2 Jalur Aktivasi MMP-1

Jalur aktivasi MMP-1 melalui *Damage-Associated Molecular Pattern* (DAMP) memainkan peran penting dalam pengaturan aktivitas enzim proteolitik ini, yang berperan dalam proses remodeling matriks ekstraselular. Ketika jaringan mengalami kerusakan atau stres oksidatif, DAMP berfungsi sebagai sinyal bahaya yang memicu respons inflamasi serta mendukung proses penyembuhan. Reseptor seperti *Toll-Like Receptor* (TLR) dan *Nod-Like Receptor* (NLR) mengenali DAMP dan mengaktifkan jalur sinyal intraseluler, termasuk yang berkontribusi pada produksi MMP-1. Jalur

aktivasi MMP-1 melalui DAMP adalah mekanisme penting dalam mengatur aktivitas enzim proteolitik ini yang terlibat dalam remodeling matriks ekstraselular.¹⁷ Ketika terjadi kerusakan jaringan atau stress oksidatif, DAMP berfungsi sebagai sinyal bahaya yang menginisiasi respons inflamasi dan proses penyembuhan. Reseptor seperti TLR dan NLR mendeteksi DAMP dan mengaktifkan jalur sinyal intraseluler, termasuk yang mengarah ke produksi MMP-1.¹⁸

Reaktif oksigen spesies (ROS), yang terbentuk sebagai produk metabolisme oksigen atau sebagai respons terhadap stres oksidatif, dapat memicu peningkatan produksi MMP-1. ROS memiliki kemampuan untuk mengoksidasi protein sinyal, yang kemudian mengaktifkan jalur sinyal intraseluler menuju ekspresi gen MMP-1. Jalur MAPK sering kali berperan penting dalam proses transkripsi MMP-1 yang dipicu oleh ROS.¹⁹ Selain itu, ekspresi MMP-1 juga diatur oleh faktor transkripsi seperti AP-1 dan NF- κ B sebagai respons terhadap keberadaan ROS.^{19,20}

MMP-1 memainkan peran penting dalam kulit yang terpapar sinar ultraviolet B (UV-B). Paparan UV-B secara langsung memengaruhi peningkatan ekspresi dan aktivitas MMP-1 di kulit. Sinar UV-B merangsang produksi berlebihan dari mediator inflamasi, seperti *interleukin-6* (IL-6) dan *epidermal growth factor* (EGF). Peningkatan sekresi protein-protein ini mendorong fibroblast sel utama yang bertanggung jawab atas sintesis kolagen dalam kulit

untuk memproduksi lebih banyak MMP-1.²¹

Produksi berlebihan MMP-1 akibat paparan UV-B dapat merusak kolagen, yang merupakan protein struktural utama kulit. Hal ini menyebabkan hilangnya elastisitas kulit, pembentukan kerutan, dan penuaan dini. Selain itu, tingginya kadar MMP-1 juga dapat menghambat regenerasi kulit dan memperlambat proses penyembuhan luka.²²

Studi menunjukkan bahwa penggunaan fotoproteksi, seperti tabir surya, efektif dalam mengurangi kerusakan akibat paparan UV-B dengan menghambat ekspresi dan aktivitas MMP-1. Selain itu, agen antioksidan dan antiinflamasi dapat digunakan untuk menekan peradangan dan stres oksidatif yang merangsang produksi MMP-1. Pemahaman lebih dalam mengenai peran MMP-1 dalam respons kulit terhadap UVB membuka peluang untuk pengembangan terapi yang lebih baik dalam melindungi kulit dari kerusakan akibat sinar matahari dan penuaan.^{21,22}

2.3 MMP-9 (Matriks metalloproteinase-9)

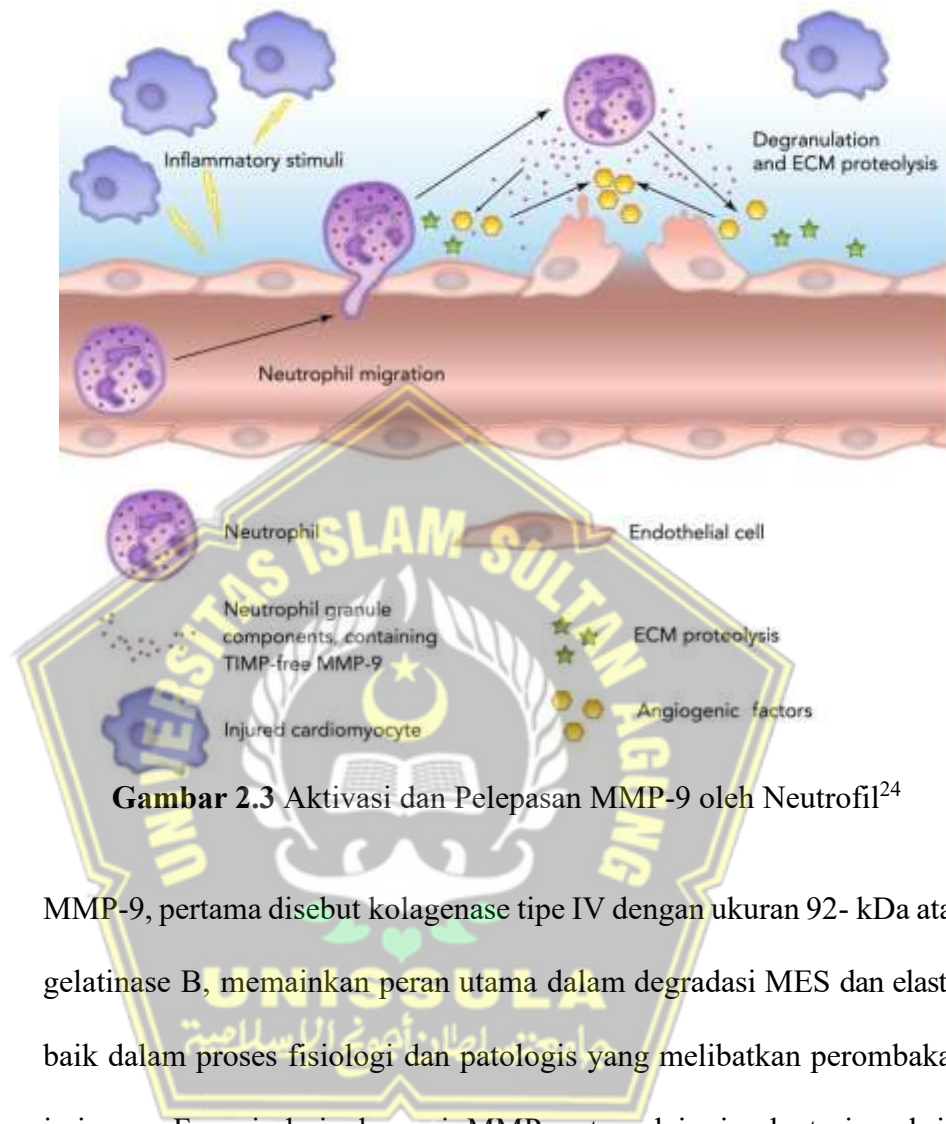
2.3.1 Definisi

Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), atau dikenal juga sebagai gelatinase B, merupakan enzim dari keluarga matriks metalloproteinase yang berperan penting dalam pemecahan matriks ekstraseluler (ECM). MMP-9 terutama berfungsi mendegradasi kolagen tipe IV, yang menjadi komponen utama membran basal, serta elastin. Aktivitas enzim ini

berkontribusi pada berbagai proses fisiologis dan patologis, seperti perombakan jaringan, penyembuhan luka, dan respons inflamasi. Dalam konteks kerusakan kulit dan *photodamaged*, MMP-9 memiliki peran signifikan dalam degradasi kolagen dan elastin, yang mengakibatkan melemahnya struktur matriks dermal. Paparan radiasi ultraviolet (UV) memicu peningkatan ekspresi MMP-9, memperburuk kerusakan kulit dan mempercepat penuaan. Stres oksidatif akibat paparan UV mengaktifkan jalur sinyal inflamasi, seperti jalur *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) dan *nuclear factor kappa B* (NF- κ B). Aktivasi jalur ini meningkatkan ekspresi MMP-9, yang kemudian memicu degradasi protein struktural di kulit. Akibatnya, elastisitas dan integritas kulit berkurang secara signifikan, yang berkontribusi terhadap munculnya tanda-tanda penuaan.²³

Di sisi lain, sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi, seperti leptin dan adiponektin, masing-masing, terkait dengan regulasi MMP. Leptin diketahui merangsang ekspresi MMP-2, MMP-9, dan *Tissue Inhibitor of Metalloproteinases* (TIMP)-1 dalam sel manusia. Sebaliknya, adiponektin berperan melindungi terhadap pecahnya plak dengan meningkatkan ekspresi TIMP secara selektif. Salah satu manifestasi hepatic dari sindrom metabolik adalah *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD). Dalam proses fibrosis hati, MMP-2 dan MT1-MMP berkontribusi terhadap perombakan parenkim hati dan dianggap sebagai enzim yang mendukung proses fibrogenik yang ditunjukkan (Gambar

2.3).^{23,24}



Gambar 2.3 Aktivasi dan Pelepasan MMP-9 oleh Neutrofil²⁴

MMP-9, pertama disebut kolagenase tipe IV dengan ukuran 92- kDa atau gelatinase B, memainkan peran utama dalam degradasi MES dan elastin baik dalam proses fisiologi dan patologis yang melibatkan perombakan jaringan. Fungsi dari ekspresi MMP antara lain implantasi embrio, dimulai dari invasi trofoblas pada masa awal kehamilan. MMP-9 melakukan diferensiasi jantung pada manusia. MMP-9 juga memainkan peran penting dalam neovaskularisasi melalui degradasi proteolitik dari protein lamina basal pembuluh darah dan pelepasan bentuk aktif biologis dari *Vascular endothelial growth factor* (VEGF).²⁴

MMP-9 diketahui disekresikan oleh berbagai jenis sel, termasuk

neutrofil, makrofag, dan fibroblas. Neutrofil mengandung banyak protease, seperti protease serin (elastase, cathepsin G, dan proteinase 3), MMP (MMP-8 dan MMP-9), serta urokinase plasminogen aktivator (uPA). Semua protease yang dilepaskan neutrofil berperan dalam mengaktivasi MMP-9. Pada neutrofil, MMP-9 disintesis selama proses diferensiasi granulosit di sumsum tulang. MMP-9 berfungsi mendegradasi matriks ekstraseluler (MES) sekaligus mengaktivasi faktor proangiogenik utama, seperti VEGF dan *Fibroblast Growth Factor-2* (FGF-2). Selain itu, MMP-9 juga berperan dalam mengatur fungsi leukosit melalui berbagai mekanisme, termasuk aktivasi pro-IL-1 β menjadi IL-1 β serta aktivasi IL-8 menjadi bentuk yang lebih aktif. Proses ini kemudian memicu degranulasi MMP-9 dari neutrofil.²⁵

2.4 *Calendula Officinalis*. L

Calendula officinalis L. merupakan tanaman berbunga yang banyak dimanfaatkan sebagai obat di Eropa, Tiongkok, Amerika Serikat, dan India. Tanaman ini dikenal dengan berbagai nama di sejumlah negara, antara lain *Zergul* (Hindi), *Marigold* (Afrika), *Pot Marigold* (Inggris), *Butterblume* (Jerman), *Chin Chan Ts'ao* (Tiongkok), *Galbinele* (Rumania), dan *Ringblomma* (Swedia). *Calendula* juga digunakan dalam pengobatan homeopati untuk menangani berbagai penyakit.



Gambar 2.4 Bunga Calendula (*Calendula Officinalis*. L)²⁵

2.4.1 Klasifikasi Taksonomi Calendula

Kingdom : Plantae
 Subkingdom : Tracheobionta
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : *Magnoliopsida*
 Subkelas : *Asteridae*
 Ordo : *Asterales*
 Famili : *Asteraceae*
 Species : *Calendula Officinalis*

Karakteristik Organoleptik *Calendula officinalis*. L memiliki bau samar, aromatik dan rasa pahit.

2.4.2 Senyawa Aktif Calendula

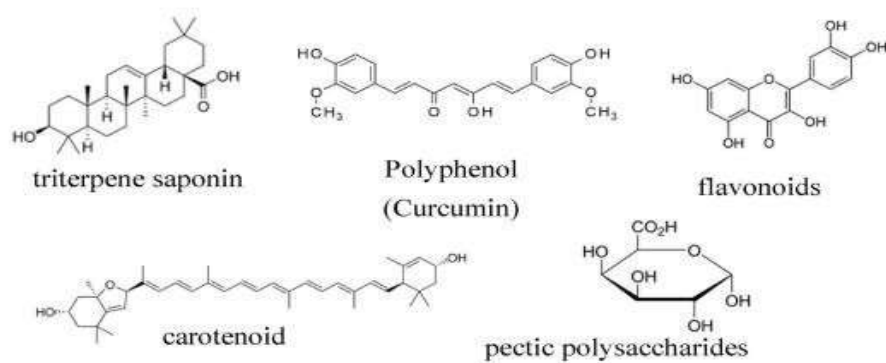


Fig. 1. Structure of key active compounds found in calendula.

Gambar 2.5 Struktur Calendula²⁶

1. Triterpenoid merupakan kelompok alami utamanya (alkohol triterpen, dan saponin triterpen), polifenol (asam fenolik dan flavonoid), karotenoid, dan polisakarida merupakan senyawa aktif utama dalam *Calendula officinalis* L. digunakan sebagai Anti-inflamasi kuat, membantu meredakan peradangan pada kulit.
2. Polifenol atau senyawa fenolik merupakan senyawa yang sangat beragam dan terdapat secara alami di berbagai tanaman, termasuk Calendula.
3. Asam fenolik dan flavonoid merupakan polifenol dan secara struktural mirip dengan cincin aromatik yang terikat pada setidaknya satu senyawa kompleks. Asam fenolik mengandung cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil yang terikat.

Flavonoid memiliki tulang punggung flavon yang terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh jembatan tiga karbon.²⁵

2.4.3 Aktivitas Farmakologi

1. Aktivitas Antivirus

Bunga calendula dapat menghambat replikasi virus herpes simpleks, influenza A2, dan influenza APR-8. Sementara itu, ekstrak air bunga terbukti tidak efektif. In vitro, ekstrak kloroform dari bunga (IC₅₀, 0,5 mg/ml) menekan multiplikasi HIV-1 pada sel MOLT-4 limfosit yang terinfeksi akut.²⁷

2. Aktivitas Anti-inflamasi dan Anti-edema

Aktivitas antiinflamasi *Calendula* berlangsung melalui mekanisme penghambatan produksi mediator inflamasi, seperti sitokin proinflamasi (misalnya TNF- α , IL-1 β , dan IL-6). Ekstrak ini juga dapat mengurangi aktivitas enzim *siklooksigenase* (COX-2) yang berperan dalam sintesis prostaglandin, molekul yang berkontribusi pada peradangan. Dengan menekan jalur inflamasi ini, calendula mampu mengurangi pembengkakan dan nyeri pada jaringan yang mengalami inflamasi.

Aktivitas antiedema, calendula menunjukkan efek anti- edema melalui penurunan permeabilitas kapiler, yang membantu mencegah akumulasi cairan di jaringan yang mengalami cedera atau peradangan. Senyawa aktif dalam calendula dapat menstabilkan dinding pembuluh darah dan mengurangi pelepasan cairan dari sistem vaskular ke jaringan interstitial, sehingga mengurangi pembengkakan.

3. Penyembuhan Luka dan Aktivitas Angiogenik

Ekstrak calendula merangsang proliferasi dan migrasi

fibroblas, yang penting dalam pembentukan jaringan baru (granulasi). Fibroblas menghasilkan kolagen yang diperlukan untuk memperbaiki struktur kulit yang rusak. Efek Antibakteri: Senyawa aktif dalam calendula, seperti flavonoid dan saponin, memberikan perlindungan terhadap infeksi mikroba di area luka, yang dapat mempercepat proses penyembuhan.

4. Antioksidan

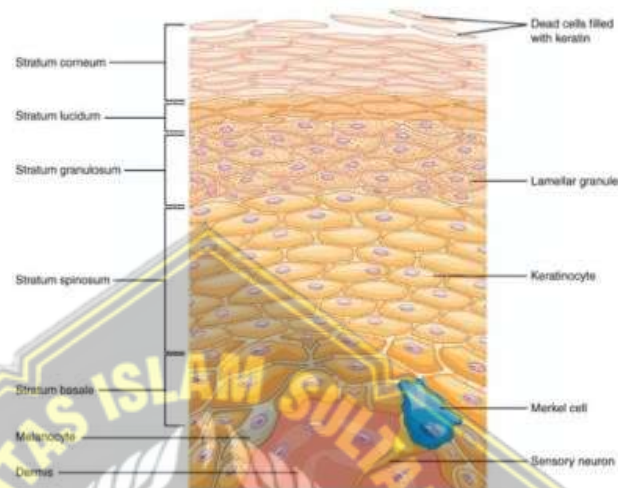
Senyawa antioksidan dalam calendula bekerja dengan menangkap dan menetralkan radikal bebas, mencegah mereka dari menyebabkan kerusakan pada struktur sel seperti lipid, protein, dan DNA. Calendula mengurangi tingkat stres oksidatif, yang sangat penting dalam mencegah penuaan dini dan berbagai penyakit kronis. Proteksi DNA dan Sel Senyawa antioksidan dalam Calendula melindungi sel dari mutasi genetik dan degradasi yang dapat dipicu oleh paparan oksidatif.^{22,25}

2.4 Histologi Kulit

Kulit merupakan penghalang fisik pertama yang melindungi tubuh dari lingkungan luar. Pada orang dewasa, luas kulit mencapai sekitar 2 meter persegi dan beratnya 4,5–5 kg, setara dengan 12–15% berat tubuh total.

Gambar (2.6) merupakan gambaran dari struktur kulit, struktur kulit terdiri dari tiga lapisan utama yaitu : epidermis (lapisan paling luar), dermis (di bawah epidermis), dan jaringan subkutan (hipodermis). Lapisan epidermis terdiri dari beberapa sublapisan seperti stratum korneum, stratum lusidum,

stratum granulosum, stratum spinosum, dan stratum basal. Lapisan tersebut kemudian berkontribusi terhadap regenerasi, perlindungan, dan fungsi kulit lainnya.²³



Gambar 2.6 Lapisan Kulit Epidermis²³

2.5 Mekanisme Degradasi Kolagen dan Elastin oleh Paparan UV

Produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) akibat paparan sinar UV, khususnya UV-A dan UV-B, menimbulkan molekul berbahaya yang dapat merusak komponen seluler seperti DNA, protein, dan lipid. ROS juga mengganggu keseimbangan redoks dalam sel, menyebabkan stres oksidatif, kemudian merusak serat kolagen dan elastin, baik secara langsung maupun melalui mekanisme inflamasi. Aktivasi *Matrix Metalloproteinase* (MMP). Sinar UV memicu peningkatan ekspresi dan aktivitas enzim MMP, seperti MMP-1 (*kolagenase*) dan MMP-9 (*gelatinase*). MMP-1 bertanggung jawab atas pemecahan serat kolagen tipe I dan III, yang merupakan komponen utama dermis. Sementara itu, MMP-9 memecah komponen matriks ekstraseluler, termasuk kolagen tipe IV dan elastin. Aktivasi berlebihan

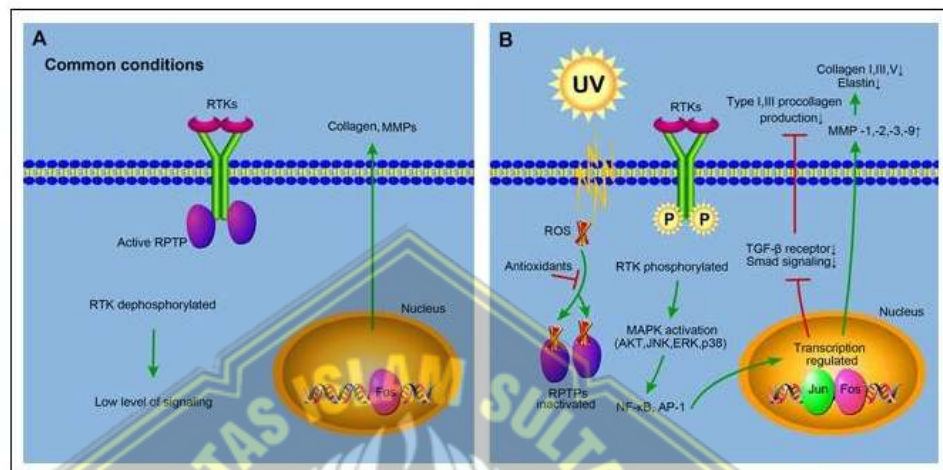
enzim-enzim ini mempercepat degradasi jaringan kolagen dan elastin, sehingga kulit kehilangan kekuatan dan elastisitasnya.²⁸

Gangguan Proses Sintesis Kolagen dan Elastin Selain meningkatkan degradasi, paparan sinar UV juga menghambat sintesis kolagen dan elastin. Fibroblas, sel-sel yang bertanggung jawab atas produksi kolagen, menjadi kurang aktif di bawah pengaruh sinar UV. Sehingga terjadi ketidakseimbangan antara pembentukan dan degradasi kolagen, yang menyebabkan kulit menjadi lebih tipis dan kendur.^{26,28}

2.6 Efektivitas Calendula dalam Mengatasi Dampak Paparan UV

Paparan sinar UV menyebabkan stres oksidatif yang merusak kulit. Senyawa antioksidan dalam calendula, seperti flavonoid, triterpenoid, saponin, dan karotenoid, membantu menetralkan ROS, mengurangi kerusakan oksidatif, dan melindungi komponen struktural kulit. Dengan menurunkan tingkat stres oksidatif, calendula membantu mencegah degradasi kolagen dan elastin yang diinduksi oleh sinar UV. Sinar UV memicu respons inflamasi dengan meningkatkan pelepasan mediator inflamasi yang merangsang aktivitas MMP. Komponen antiinflamasi pada *Calendula*, seperti saponin dan flavonoid, berfungsi menekan peradangan dengan cara mengurangi produksi mediator inflamasi, seperti *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α) dan *Interleukin-1 beta* (IL-1 β), serta menghambat aktivasi MMP-1 dan MMP-9. Mekanisme ini membantu mempertahankan integritas struktur kulit serta mengurangi kerusakan kolagen dan elastin. Selain menghambat aktivitas MMP, ekstrak Calendula juga mendukung proses penyembuhan dan

perbaikan kulit *Calendula* mempercepat regenerasi jaringan dan mendorong sintesis kolagen baru, yang penting untuk memperbaiki kulit yang rusak akibat sinar UV.^{25,26}



Gambar 2.7 Molekuler ROS pada Kulit²⁹

Gambar (2.7) menunjukkan molekul ROS pada kulit, dalam kondisi normal, *Receptor Protein Tyrosine Phosphatases* (RPTPs) aktif dan melakukan dephosphorylation terhadap *Receptor Tyrosine Kinase* (RTKs), sehingga aktivitas RTKs tetap rendah. Aktivasi RTKs yang minimal menghasilkan sinyal intraseluler yang terbatas, menjaga produksi kolagen dan *matrix metalloproteinases* (MMPs) dalam tingkat normal untuk mempertahankan homeostasis jaringan kulit. Pada tahap ini, aktivasi gen melalui faktor transkripsi seperti Fos juga terkontrol.²⁹

Sebaliknya, paparan sinar UV meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS), yang menginaktivasi RPTPs dan menyebabkan fosforilasi RTKs. Aktivasi RTKs memicu jalur sinyal intraseluler seperti mitogen-activated protein kinase (MAPK), termasuk AKT, JNK, ERK, dan p38, serta jalur inflamasi seperti NF-κB dan AP-1. Sinyal-sinyal ini meningkatkan

ekspresi enzim MMPs, termasuk MMP-1, -2, -3, dan -9, yang mendegradasi komponen ECM seperti kolagen tipe I, III, dan VI, serta elastin, sehingga merusak struktur dermis. Selain itu, paparan UV menghambat produksi kolagen tipe I dan III serta prokolagen, yang memperparah kerusakan kulit. Aktivasi *Transforming Growth Factor-beta* (TGF- β) dan jalur Smad juga berkontribusi pada regulasi transkripsi, yang memengaruhi keseimbangan ECM. Secara keseluruhan, paparan UV memicu stres oksidatif yang mengganggu homeostasis kulit, meningkatkan aktivitas MMPs, mengurangi produksi kolagen, dan menyebabkan kerusakan struktur dermis yang berkontribusi pada penuaan kulit.³⁰



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori

Paparan sinar UV meningkatkan produksi ROS, yang merangsang jalur inflamasi melalui aktivasi NF- κ B dan pelepasan sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α . Aktivasi ini memicu kerusakan DNA dan meningkatkan regulasi MMP-1 serta MMP-9, enzim yang memecah kolagen dan matriks ekstraseluler. Ketidakseimbangan enzim ini turut memengaruhi proporsi makrofag tipe 1 dan tipe 2, mempercepat penuaan kulit dan melemahkan fungsi penghalang kulit.

Pada tahap inflamasi, paparan sinar UV meningkatkan aktivitas NF- κ B, yang merangsang ekspresi MMP-1 dan MMP-9. Enzim-enzim ini berperan dalam degradasi kolagen dan matriks ekstraseluler, memengaruhi fase inflamasi awal hingga fase proliferasi. Selama proses regenerasi, makrofag tipe 2 mendukung perbaikan jaringan dengan menekan respons inflamasi, sementara penurunan aktivitas MMP-1 dan MMP-9 diperlukan untuk mencegah kerusakan lebih lanjut. Penghambatan degradasi kolagen selama fase maturasi membantu menjaga struktur dan elastisitas kulit. Dengan demikian, pengaturan aktivitas MMP-1 dan MMP-9 berperan penting dalam regenerasi kulit dan perlindungan dari efek paparan UV.

Kombinasi peningkatan MMP-1 dan MMP-9 menciptakan siklus degradasi matriks dan inflamasi yang sulit terhenti. MMP-1 memecah kolagen tipe I, sedangkan MMP-9 menghancurkan komponen matriks ekstraseluler

lainnya, memperburuk kerusakan jaringan. Aktivitas berlebihan enzim ini menyebabkan hilangnya elastisitas kulit dan mempercepat proses penuaan. Selain itu, degradasi matriks berkontribusi pada gangguan regenerasi jaringan, meningkatkan risiko inflamasi kronis yang berkepanjangan dan memperlambat penyembuhan luka. Jika tidak terkendali, aktivitas MMP-1 dan MMP-9 yang berlebihan dapat memperburuk kondisi kulit akibat paparan UV atau cedera lainnya.

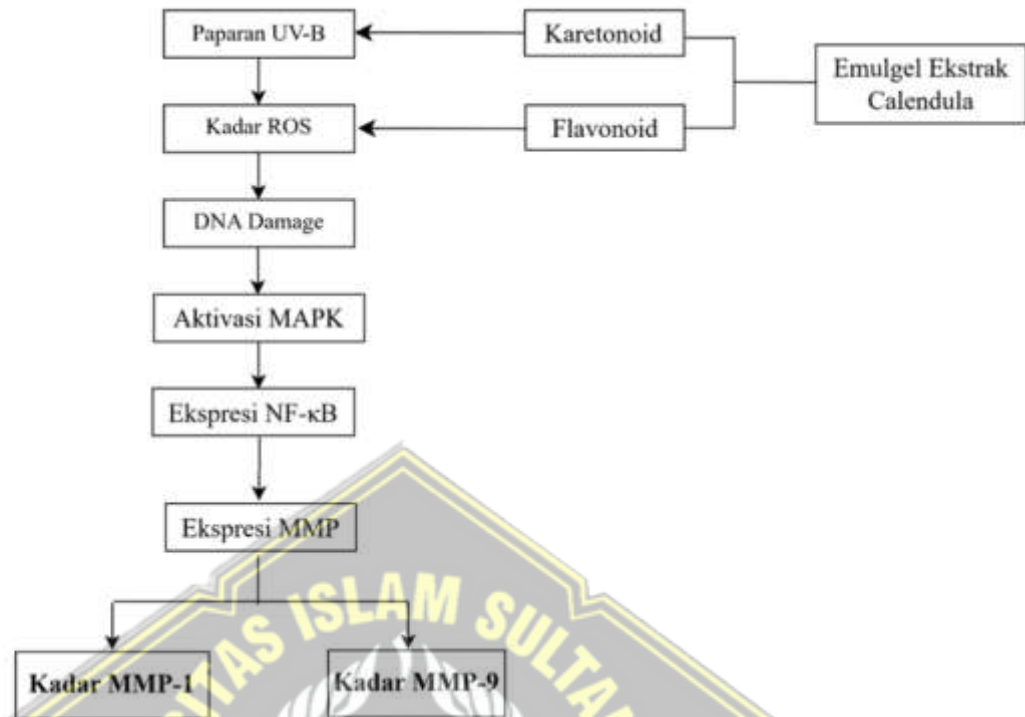
Untuk mencegah siklus degradasi jaringan yang melibatkan MMP-1 dan MMP-9, penggunaan bahan alami seperti ekstrak *Centella asiatica* dapat menjadi solusi efektif. Ekstrak ini mengandung senyawa bioaktif, termasuk asiaticoside, madecassoside, dan asam asiatik, yang memiliki efek antiinflamasi dan antioksidan. Senyawa ini bekerja dengan menetralkan ROS, sehingga menghambat aktivasi jalur NF- κ B. Dengan penghambatan NF- κ B, produksi MMP-1 dan MMP-9 dapat ditekan, mencegah kerusakan kolagen dan matriks ekstraseluler. Selain itu, asiaticoside berperan dalam mendukung regenerasi jaringan dengan meningkatkan produksi kolagen tipe I dan III, membantu menjaga elastisitas dan struktur kulit. Pendekatan ini tidak hanya melindungi jaringan kulit dari kerusakan tetapi juga mendukung proses penyembuhan alami.

Senyawa polifenol, seperti *epigallocatechin gallate* (EGCG) dalam teh hijau, bertindak sebagai penghambat alami aktivitas MMP-1 dan MMP-9, mencegah degradasi kolagen dan matriks ekstraseluler akibat paparan sinar UV. Sebagai antioksidan kuat, EGCG juga melindungi lipid membran dan protein matriks dari kerusakan oksidatif yang dipicu oleh ROS, menjaga struktur dan fungsi jaringan kulit. Selain itu, senyawa ini mampu menekan

jalur inflamasi dengan menghambat aktivasi NF- κ B, yang secara langsung mengurangi produksi enzim MMP dan sitokin pro-inflamasi. Dengan demikian, EGCG mendukung stabilitas jaringan kulit, menjaga elastisitas, serta mencegah penuaan dini.

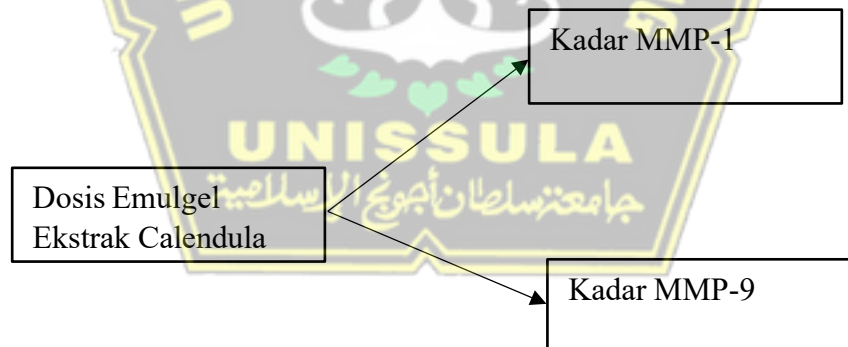
Penggunaan emulgel ekstrak *Calendula officinalis. L* diharapkan dapat menghambat aktivitas MMP-1 dan MMP-9 secara efektif, sehingga mempercepat pemulihan jaringan kulit. Kandungan bioaktif seperti flavonoid dan saponin dalam *Calendula officinalis. L* bekerja sebagai antiinflamasi dan antioksidan alami yang melindungi kolagen serta matriks ekstraseluler dari kerusakan akibat ROS. Flavonoid membantu menurunkan aktivitas MMP-1, menjaga kolagen dari degradasi, sedangkan saponin berperan dalam menstabilkan ECM dan mendukung regenerasi jaringan. Dengan regulasi enzim ini, struktur kolagen diperbaiki, elastisitas kulit dipertahankan, dan proses penyembuhan jaringan menjadi lebih optimal. Kombinasi ini memungkinkan kulit kembali ke kondisi normal dengan kesehatan, kekuatan, dan elastisitas yang lebih baik.

Calendula officinalis. L efektif mengatasi kerusakan kulit akibat UV dengan menghambat aktivitas MMP-1 dan MMP-9, melindungi kolagen, dan menjaga matriks ekstraseluler. Ekstrak ini mendukung regenerasi kulit, memperbaiki elastisitas, dan mencegah penuaan dini, menjadikannya solusi alami untuk kerusakan kulit.



Gambar 3.1 Kerangka Teori

3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep

3.3 Hipotesis Penelitian

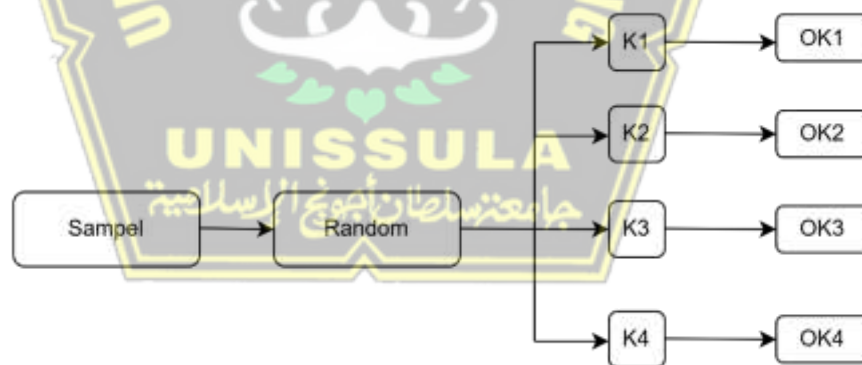
Terdapat pengaruh dalam pemberian emulgel ekstrak calendula (*Calendula Officinalis. L*) terhadap kadar MMP-1 dan MMP-9 pada tikus Wistar jantan yang diinduksi sinar UV-B.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan eksperimental in-vivo dengan pendekatan *post-test only control group design*. Model hewan tikus Wistar dipilih untuk mengevaluasi efek pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis*. L terhadap kadar MMP-1 dan MMP-9 pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi paparan sinar UV-B. Tikus dibagi menjadi empat kelompok, yaitu satu kelompok negatif (tidak dipapar sinar UV-B dan diberikan emulgel pembanding), satu kelompok kontrol positif (paparan sinar UV-B dan pemberian emulgel pembanding) dan dua kelompok perlakuan yang diberikan emulgel ekstrak calendula.



Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

1. K1: Tikus tidak di induksi UV-B dan diberikan pengolesan emulgel pembanding.
2. K2: Tikus di induksi UV-B dan diberikan pengolesan emulgel

pembanding.

3. K3: Tikus di induksi UV-B dan diberikan perlakuan dengan pengolesan emulgel ekstrak calendula dengan konsentrasi 10%.
4. K4: Tikus di induksi UV-B dan diberikan perlakuan dengan pengolesan emulgel ekstrak calendula dengan konsentrasi 20%.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini terdiri dari tikus jantan galur Wistar yang dikembangkan dan dipelihara dari *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL), Fakultas Kedokteran Unissula, berusia 8-12 minggu dengan berat badan 150–200 gram, yang memenuhi kriteria sebagai subjek penelitian.

4.2.2 Sampel Penelitian

Pemilihan sampel mengacu pada pedoman WHO, jumlah minimum sampel per kelompok adalah 5 ekor, ditambah 10% (1 ekor) sebagai cadangan untuk mengantisipasi kemungkinan kehilangan subjek (*loss to follow-up*). Pemilihan sampel dilakukan dengan metode acak sederhana (*simple random sampling*) dan dibagi menjadi empat kelompok, yaitu satu kelompok sehat, satu kelompok kontrol, serta dua kelompok perlakuan. Penentuan jumlah sampel juga mempertimbangkan kriteria Federer, dengan jumlah minimum 6 ekor per kelompok, sesuai dengan rumus berikut:

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

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

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

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 15 + 3$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Keterangan:

t = jumlah kelompok (4 kelompok).

r = jumlah pengulangan.

Dalam rumus tersebut, *n* mewakili jumlah tikus per kelompok, sedangkan *t* adalah jumlah kelompok (kontrol dan perlakuan). Dengan jumlah tikus per-kelompok ditetapkan 6 ekor, sehingga diperlukan 24 tikus untuk percobaan ini. Jika terdapat 4 kelompok, maka jumlah minimal tikus yang dibutuhkan untuk percobaan yaitu 28 tikus, dengan 1 tikus cadangan pada masing-masing kelompok.

Kelompok yang digunakan dalam penelitian ini meliputi:

1. Kelompok Kontrol Negatif: 6 tikus.
2. Kelompok Kontrol Positif: 6 tikus.
3. Kelompok Perlakuan I (P1): 6 tikus.
4. Kelompok Perlakuan II (P2): 6 tikus.

4.2.3 Kriteria Inklusi

- a. Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*).

- b. Berusia 8–12 minggu (dewasa muda).
- c. Memiliki berat badan 150–200 gram.
- d. Sehat secara klinis (tidak menunjukkan tanda-tanda penyakit seperti luka, infeksi, atau kelemahan fisik).
- e. Belum pernah terpapar sinar UV atau zat kimia lainnya sebelumnya.
- f. Memiliki kondisi kulit yang utuh tanpa luka atau lesi.

4.2.4 Kriteria Eksklusi

- a. Tikus yang menunjukkan gejala sakit atau stres selama masa adaptasi (7 hari).
- b. Tikus yang mengalami luka atau kerusakan kulit sebelum atau selama perlakuan.
- c. Tikus yang memiliki respons abnormal terhadap perlakuan (contoh: alergi terhadap emulgel atau stres berlebihan).

4.2.5 Kriteria *Drop Out*

- a. Tikus yang tidak mampu bertahan hingga akhir perlakuan (mati).

4.3 Variabel dan Definisi Operasional

4.3.1 Variabel

1. Variabel Bebas : Emulgel berbasis ekstrak *Calendula officinalis*. L
2. Variabel Tergantung : Kadar MMP-1 dan Kadar MMP-9.
3. Variabel Kontrol : Durasi paparan UV, jenis pakan, kondisi lingkungan, dan jumlah sampel.

4.3.2 Definisi Operasional

1. Dosis Emulgel berbasis ekstrak *Calendula officinalis*. L

Emulgel topikal yang digunakan dalam penelitian ini mengandung ekstrak *Calendula officinalis* L. dalam dua variasi konsentrasi, yaitu 10% dan 20%. Ekstrak diperoleh secara komersial dari PT INBI Nusantara Sejahtera melalui metode ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70%, serta disertai dokumen *Certificate of Analysis* (COA) dan *Material Safety Data Sheet* (MSDS) sebagai jaminan mutu dan keamanan. Karena bahan aktif yang digunakan merupakan ekstrak etanol (bukan minyak atsiri), maka dipilih bentuk sediaan emulgel berbasis hidrofilik. Basis emulgel diperoleh dari PT Derma Elok Farma dan diformulasikan dengan ekstrak calendula dalam konsentrasi 10% dan 20%. Emulgel diaplikasikan satu kali per hari, dimulai satu jam setelah paparan, selama 14 hari berturut-turut. Dosis aplikasi adalah 0,1 ml/cm² (1 gram per ekor), diberikan satu jam setelah paparan UV.³¹

Satuan : mg (miligram)

Skala : Ordinal

2. Paparan sinar UV

Kulit tikus Wistar jantan diinduksi dengan paparan sinar UV-B menggunakan lampu UV-B dengan panjang gelombang 302 nm. Penyinaran UV-B dilakukan sekali sehari dengan dosis 400 mJ/cm² setiap kali penyinaran selama 14 hari. Cahaya

berjarak 8 cm dari punggung tikus. Setiap sesi penyinaran berlangsung selama 12 menit per hari untuk mencapai total intensitas yang ditentukan.³²

Satuan : mJ/cm^2 (Milijoule)

Skala : Ordinal

3. Pengukuran kadar MMP-1 dan MMP-9

Pengukuran kadar MMP-1 dan MMP-9 dilakukan menggunakan metode ELISA, yang merupakan teknik imunologi untuk mendeteksi dan mengukur protein dalam sampel darah tikus. Cara pengukuran: Pengambilan darah pada orbita tikus, kemudian sampel dianalisis di laboratorium untuk mengetahui kadar protein MMP-1 dan MMP-9.

Satuan : pg/mL (pikogram/mL)

Skala : Rasio

4.4 Alat dan Bahan

4.4.1 Alat

1. Alat Paparan Sinar UV: Alat yang digunakan untuk memaparkan sinar UV-B pada kulit tikus untuk menimbulkan *photodamaged*.
2. Kandang tikus: Untuk tempat tinggal tikus selama masa penelitian, dengan kondisi lingkungan yang terkontrol (suhu, kelembaban, dan pencahayaan).
3. UV Meter: Menghasilkan sinar UV-A dan UV-B dengan intensitas yang terukur dan konsisten.

4. Timbangan digital: Untuk mengukur berat tikus secara akurat sebelum dan selama penelitian.
5. Suntikan: Untuk mengambil sampel pada kulit hewan uji.
6. Mikropipet dan tips: Untuk menambahkan reagen secara akurat saat pengukuran ELISA.
7. Plate reader ELISA: Untuk membaca hasil pengukuran kadar MMP-1 dan MMP-9 setelah proses ELISA.
8. Freezer: Untuk menyimpan sampel darah tikus sebelum dilakukan analisis lebih lanjut.

4.4.2 Bahan

1. Tikus Wistar Jantan: Usia 8-12 minggu, berat 150-200 gram. Tikus ini dipilih sebagai model hewan untuk studi *photodamaged* kulit akibat sinar UV.
2. Emulgel Berbasis Ekstrak *Calendula officinalis*. *L*: Ekstrak dari bunga *Calendula officinalis*. *L* dengan konsentrasi tertentu 10% atau 20%, yang dicampur dalam formulasi emulgel.
3. Emulgel pembanding yang sudah diketahui memiliki efek penyembuhan atau perlindungan terhadap paparan UV.
4. Fisiologis NaCl 0.9%: Digunakan sebagai larutan pembilas saat pengambilan sampel.
5. Reagen ELISA Kit untuk MMP-1 dan MMP-9: Kit ELISA untuk pengukuran kadar MMP-1 dan MMP-9 dalam sampel darah

tikus.

4.5 Cara Penelitian

4.5.1 Permohonan Ethical Clearance

Permohonan *ethical clearance* diajukan kepada Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang. Persetujuan ini *ethical clearance* menjadi syarat utama sebelum penelitian dilaksanakan.

4.5.2 Persiapan Tikus

1. Adaptasi: Tikus Wistar jantan yang sehat diadaptasikan selama 7 hari di dalam kandang dengan kondisi lingkungan yang terkontrol (suhu 25°C, siklus cahaya 12 jam terang-gelap, dan kelembaban sekitar 50- 60%).
2. Randomisasi: Setelah adaptasi, tikus dibagi secara acak menjadi tiga kelompok (masing-masing 6 ekor tikus per kelompok).
 - a. Kelompok 1: Kelompok tikus sehat, tidak diberikan paparan UV-B dan diberikan emulgel pembanding.
 - b. Kelompok 2: Tikus diberikan paparan UV dan diberikan emulgel pembanding.
 - c. Kelompok 3: Tikus yang diinduksi UV dan diberi emulgel ekstrak calendula dengan konsentrasi 10%.
 - d. Kelompok 4 : Tikus yang diinduksi UV dan diberi emulgel ekstrak calendula dengan konsentrasi 20%.

4.5.3 Pembuatan Ekstrak Bunga Calendula officinalis. L

Dalam penelitian ini, digunakan ekstrak siap pakai yang diperoleh dari PT INBI Nusantara Sejahtera, sebuah perusahaan penyedia bahan baku kosmetik yang telah tersertifikasi. Ekstrak ini diperoleh melalui proses ekstraksi standar industri menggunakan pelarut etanol 70% dengan rasio bahan dan pelarut yang telah terukur secara presisi, dan dilakukan pada suhu serta durasi yang sesuai untuk mempertahankan kandungan bahan aktif. Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini telah dilengkapi dengan dokumen MSDS (*Material Safety Data Sheet*) dan COA (*Certificate of Analysis*) yang menjamin keamanan, kualitas, dan konsistensi bahan aktif dalam sediaan kosmetik.

4.5.4 Pembuatan Basis Emulgel

Dalam penelitian ini, digunakan basis emulgel yang diperoleh dari PT Derma Elok Farma Industri Kosmetik. Basis ini telah diformulasikan secara profesional menggunakan bahan-bahan umum dalam sediaan kosmetik seperti *Carbopol 940*, *glycerin*, dan *triethanolamine* (TEA) sebagai penstabil pH. Pemilihan basis emulgel dari industri dilakukan untuk menjamin kestabilan fisik, keamanan, serta konsistensi pH yang sesuai dengan pH kulit (sekitar 5,5–6,5). Dengan menggunakan basis yang telah terstandarisasi ini, proses formulasi menjadi lebih efisien dan hasil akhir sediaan diharapkan lebih optimal dalam aspek tekstur, kenyamanan, dan efektivitas penggunaan.

4.5.5 Pencampuran Ekstrak ke Dalam Basis Emulgel

Setelah ekstrak *Calendula officinalis L.* dan basis emulgel siap, kemudian dilakukan pencampuran ekstrak ke dalam basis emulgel.

Langkah-langkah:

1. Penimbangan ekstrak: Ekstrak *Calendula officinalis L.* ditimbang sesuai dengan konsentrasi 10% dan 20%.
2. Pencampuran ekstrak: Masukkan ekstrak ke dalam basis emulgel secara bertahap sambil diaduk perlahan menggunakan mixer homogenizer hingga ekstrak tercampur rata ke dalam basis emulgel.
3. Pemeriksaan viskositas: Setelah ekstrak tercampur, periksa viskositas emulgel untuk memastikan konsistensinya sesuai untuk aplikasi topikal.
4. Penyimpanan: Simpan emulgel yang sudah jadi di dalam wadah tertutup rapat dan steril untuk mencegah kontaminasi. Simpan pada suhu ruang yang terhindar dari sinar matahari langsung.

Tabel 4.1 Formula Emulgel Ekstrak Calendula ¹⁰

Bahan	F1	F2
Basis emulgel diperoleh <i>Raw Material Cosmética</i> ad 100%. Tiap formula sediaan emulgel dibuat dalam 500 g	Ad 100% (450 g)	Ad 100% (400 g)
Ekstrak Calendula (g)	10% (50 g)	20% (100 g)

4.5.6 Penentuan Dosis Ekstrak

Penentuan dosis topikal ekstrak calendula dilakukan berdasarkan

telaah pustaka dari penelitian-penelitian sebelumnya. Studi terdahulu menunjukkan bahwa penggunaan topikal ekstrak *Calendula officinalis* L. dengan konsentrasi 10% memberikan efek yang stabil dalam mengurangi gejala *photoaging* akibat paparan sinar UV-B. Berdasarkan temuan tersebut, penelitian ini juga menambahkan konsentrasi yang lebih tinggi, yaitu 20%, untuk mengevaluasi perbedaan efektivitasnya terhadap kulit tikus. Oleh karena itu, konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10% dan 20% dalam bentuk sediaan topikal.¹⁰

4.5.7 Induksi *Photodamaged* dengan Sinar UV

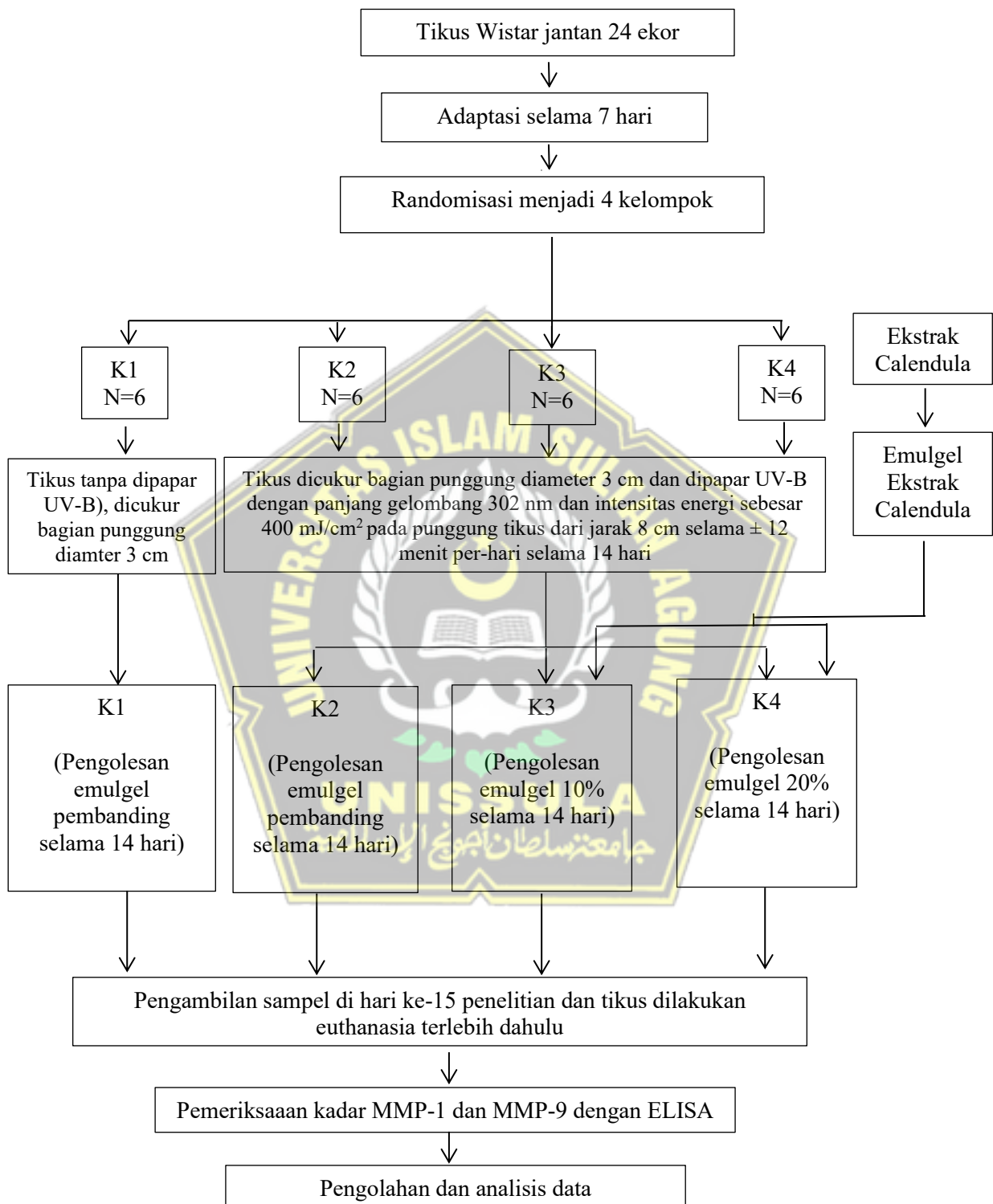
1. Paparan UV-B: Tikus diberi paparan sinar UV-B dengan intensitas 400 mJ/cm^2 , setiap hari selama 14 hari, dengan panjang gelombang 302 nm. Setiap sesi penyinaran berlangsung selama 12 menit per hari untuk menyebabkan *photodamaged* pada kulit, dengan jarak 8 cm. Area yang dipaparkan adalah bagian punggung tikus yang telah dicukur sebelumnya seluas 3 cm.³²
2. Aplikasi Emulgel: Emulgel diaplikasikan pada area punggung tikus yang telah terpapar sinar UV-B sebanyak satu kali per hari, dengan waktu pemberian satu jam setelah paparan. Setiap aplikasi diberikan dengan dosis $0,1 \text{ mL/cm}^2$ atau setara dengan 1 gram per ekor, selama 14 hari berturut-turut.³¹ Setelah proses induksi selesai, semua kelompok diberikan aplikasi emulgel topikal sebagai berikut:

- a. Kelompok 1: Dioleskan emulgel pembanding, tanpa paparan UV-B. Aplikasi dilakukan sehari sekali selama 14 hari.
- b. Kelompok 2: Dioleskan emulgel pembanding, setelah paparan UV-B. Aplikasi dilakukan sehari sekali selama 14 hari.
- c. Kelompok 3: Dioleskan emulgel berbasis ekstrak *Calendula officinalis. L* dengan konsentrasi yang telah ditentukan (10%) pada area kulit yang terpapar UV-B. Aplikasi dilakukan sehari sekali selama 14 hari.
- d. Kelompok 4: Dioleskan emulgel berbasis ekstrak *Calendula officinalis. L* dengan konsentrasi yang telah ditentukan (20%) pada area kulit yang terpapar UV-B. Aplikasi dilakukan sehari sekali selama 14 hari.

4.5.8 Analisis Kadar MMP-1 dan MMP-9

Analisis dilakukan setelah tikus didiamkan selama 24 jam, kemudian di euthanasia dengan xylazin 20 mg/kgBB dan ketamin dengan dosis 60 mg/kgBB secara IM. Kadar MMP-1 dan MMP-9 dalam sampel darah pada orbita tikus diambil sebanyak 0,5 cc, kemudian diukur menggunakan kit ELISA komersial sesuai dengan protokol yang tersedia. Pembacaan hasil dilakukan dengan plate reader ELISA.³³

4.6 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Alur Penelitian

4.7 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini menggunakan ekstrak *Calendula* yang berasal dari bahan baku komersial milik PT INBI Nusantara Sejahtera. Proses formulasi sediaan emulgel dilakukan di laboratorium milik PT Derma Elok Farma, kemudian uji coba pada hewan dilakukan di fasilitas hewan *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL), Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Selanjutnya, analisis sampel dilakukan di Laboratorium CITO, Semarang. Rangkaian penelitian ini berlangsung pada bulan Juli-Agustus 2025.

4.8 Analisis Data

Analisis data penelitian dilakukan secara statistik dengan tahap awal menggunakan uji deskriptif, diikuti oleh uji normalitas *Shapiro-Wilk* serta uji homogenitas varians menggunakan uji *Levene*. Data yang berdistribusi normal dan variansnya homogen ($p > 0,05$), dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way ANOVA* untuk melihat perbedaan antar kelompok. Uji lanjutan *Post Hoc Tukey* dilakukan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda signifikan. Keputusan terhadap hipotesis ditentukan berdasarkan nilai signifikansi 5% ($p < 0,05$). Seluruh analisis dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS versi 27.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menilai efek pemberian emulgel ekstrak *Calendula officinalis* L. terhadap kadar MMP-1 dan MMP-9 pada tikus Wistar jantan yang terpapar sinar UV-B secara *in vivo*. Penelitian ini dijadwalkan berlangsung dari Mei hingga Agustus 2025 dan dilakukan di tiga lokasi, yaitu pembuatan bahan baku ekstrak *Calendula* dilakukan oleh PT INBI Nusantara Sejahtera, formulasi sediaan emulgel dilakukan di laboratorium PT Derma Elok Farma, dan uji coba hewan dilakukan di *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, dan analisis sampel dilakukan di Laboratorium CITO, Semarang.

Sebanyak 24 ekor tikus jantan galur Wistar yang berusia 8–10 minggu dan memiliki berat badan antara 150–200 gram digunakan sebagai subjek penelitian. Tikus ini dibagi menjadi empat kelompok dimana masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor. Adapun pembagian kelompok penelitian adalah sebagai berikut:

- K1: kelompok tikus sehat (tanpa paparan UV-B dan diberi emulgel pembanding)
- K2: kelompok kontrol negatif (paparan UV-B dan diberi emulgel pembanding)
- K3: kelompok perlakuan 1 (paparan UV-B dan diberi emulgel ekstrak *Calendula* 10%)

- K4: kelompok perlakuan 2 (paparan UV-B dan diberi emulgel ekstrak Calendula 20%)

Setelah 15 hari perlakuan, sampel darah diambil untuk dianalisis. Kadar MMP-1 dan MMP-9 dalam sampel darah akan diukur menggunakan metode ELISA untuk menentukan konsentrasi masing-masing biomarker yang relevan dengan proses penelitian.

5.1.1 Gambaran Makroskopis pada Paparan UV-B Antar Kelompok

Pengamatan makroskopis dilakukan untuk mengevaluasi kondisi kulit tikus pada setiap kelompok setelah paparan sinar UV-B dan perlakuan yang diberikan. Tujuan dari pemeriksaan ini adalah untuk memastikan bahwa prosedur paparan UV-B dan pemberian emulgel Calendula dilakukan dengan cara yang konsisten di seluruh hewan uji, sehingga respons kulit terhadap perlakuan dapat diamati secara seragam di setiap kelompok. Pengukuran dilakukan setiap hari mulai dari hari ke-0 (H0) hingga hari ke-14 (H14). Kelompok K1 sebagai kontrol sehat tidak menerima perlakuan paparan UV-B atau emulgel Calendula, sehingga tidak dicatatkan perubahan pada kondisi kulit dan hanya digunakan sebagai referensi normal untuk perbandingan dengan kelompok perlakuan lainnya.



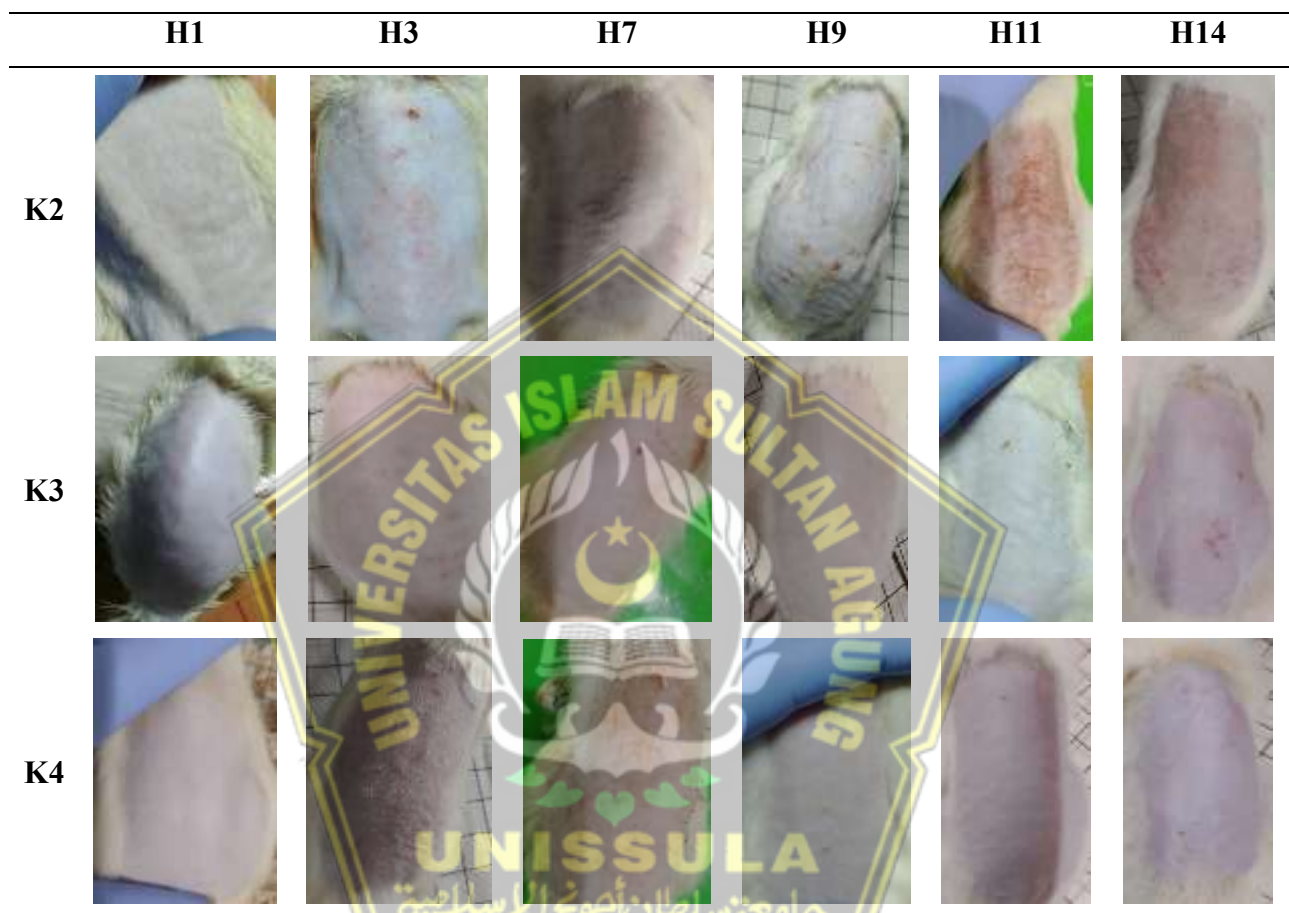
Gambar 5.1 Tikus Sehat

Gambar 5.2 menunjukkan kondisi kulit tikus yang tidak terpapar paparan sinar UV-B pada kelompok Tikus Sehat (K1). Kondisi kulit ini menunjukkan tampilan yang normal, halus, dan tidak terdapat tanda-tanda kerusakan atau peradangan. Ini menunjukkan bahwa pada kelompok Tikus Sehat, tidak ada perubahan atau kerusakan kulit yang disebabkan oleh faktor eksternal, seperti paparan UV-B.

Kondisi kulit tikus pada kelompok yang terpapar UV-B dan mendapat perlakuan pada hari ke-1, 5, 7, 9, 11, dan 14 ditunjukkan pada Gambar 5.3. Pengamatan dilakukan pada tiga kelompok perlakuan yang berbeda, yaitu K2, K3, dan K4 untuk melihat efek dari paparan sinar UV-B serta pemberian perlakuan Emulgel Calendula.

Pada kelompok K2 yang hanya diberikan UV-B dengan base emulgel, terlihat adanya kerusakan kulit yang jelas setelah paparan UV-B. Pada hari pertama, kulit tikus mulai menunjukkan tanda-tanda kemerahan dan iritasi. Pada hari-hari berikutnya, kerusakan kulit semakin terlihat dengan munculnya luka bakar ringan dan

penebalan kulit. Hal ini mengindikasikan bahwa paparan UV-B tanpa perlakuan dapat menyebabkan peradangan dan kerusakan pada kulit tikus.



Gambar 5.2 Kulit Punggung Tikus Setelah Paparan UVB pada Hari ke-1, 5, 7, 9, 11, 14. (K2) Tikus dengan paparan UVB + base emulgel; (K3) Tikus dengan paparan UVB + emulgel Calendula 10%; (K4) Tikus dengan paparan UVB + emulgel Calendula 10%.

Pada kelompok K3 yang diberi Emulgel Calendula 10%, kondisi kulit tikus setelah paparan UV-B menunjukkan perbaikan yang lebih baik dibandingkan dengan kelompok K2. Meskipun pada hari pertama kulit tikus menunjukkan sedikit kemerahan, seiring berjalannya waktu, kondisi kulit pada kelompok K3 menunjukkan tanda-tanda penyembuhan dengan kerusakan yang lebih minimal

dibandingkan kelompok yang hanya diberi base emulgel. Emulgel Calendula yang diberikan pada kelompok ini memiliki sifat antiinflamasi dan penyembuhan luka yang membantu mempercepat proses penyembuhan kulit yang rusak akibat paparan UV-B.

Sedangkan, kelompok K4 yang diberi Emulgel Calendula 20% menunjukkan hasil yang lebih buruk dibandingkan dengan kelompok K3 yang diberi Emulgel Calendula 10%, namun tetap lebih baik dibandingkan dengan K2 yang hanya diberi base emulgel tanpa Calendula. Meskipun pada kelompok K4 dengan dosis yang lebih tinggi, kulit tikus menunjukkan kerusakan yang lebih signifikan pada awalnya, hal ini disebabkan oleh efek yang lebih kuat dari Calendula 20% yang merangsang respons imun atau inflamasi lebih intens. Namun, dalam jangka waktu yang lebih lama, kelompok K4 menunjukkan tanda-tanda penyembuhan dan regenerasi kulit yang lebih baik daripada K2 meskipun masih terlihat kulit tampak lebih kemerahan dibandingkan dengan K3.

Secara keseluruhan, meskipun kelompok K4 dengan dosis Calendula 20% mengalami peningkatan kerusakan pada awalnya, mereka tetap menunjukkan perbaikan yang lebih baik dibandingkan dengan kelompok yang hanya diberi base emulgel (K2). Namun, dosis Calendula 10% pada kelompok K3 terbukti lebih efektif dalam mempercepat pemulihan kulit setelah paparan sinar UV-B. Penurunan kadar kerusakan kulit di kelompok K3 menunjukkan

bahwa dosis yang lebih rendah dari Calendula memberikan efek lebih seimbang dalam merangsang penyembuhan tanpa menimbulkan reaksi inflamasi yang berlebihan.

5.1.2 Hasil Pemeriksaan Kadar MMP-1 pada Darah

Hasil analisis rerata kadar MMP-1 pada tiap kelompok hari ke-15 setelah perlakuan ditunjukkan pada tabel 5.1 sebagai berikut:

Tabel 5.1 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar MMP-1 dan One Way ANOVA

Kelompok	Tikus Sehat (K1)	Kontrol Negatif (K2)	Emulgel Calendula 10% (K3)	Emulgel Calendula 20% (K4)	<i>P value</i>
Kadar MMP-1 ng/mL					
Mean	3,935	4,787	4,662	4,788	
SD	0,534	0,437	0,205	0,360	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,949	0,083	0,462	0,683	
<i>Levene Test</i>					0,148
<i>One Way ANOVA</i>					0,004

Keterangan:

Shapiro-Wilk = Data berdistribusi normal ($p > 0,05$)

Levene Test = Data homogen ($p > 0,05$)

One Way ANOVA = Terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil analisis pada Tabel 5.1, kadar MMP-1 rata-rata pada kelompok tikus sehat (K1) adalah $3,935 \pm 0,534$ ng/mL, sedangkan pada kelompok kontrol negatif (K2) meningkat menjadi $4,787 \pm 0,437$ ng/mL. Peningkatan ini menunjukkan bahwa paparan sinar UV-B mampu memicu ekspresi MMP-1 lebih tinggi dibandingkan kulit normal yang tidak terpapar. Pada kelompok perlakuan dengan emulgel Calendula 10% (K3) dan 20% (K4), kadar MMP-1 masing-masing adalah $4,662 \pm 0,205$ ng/mL dan $4,788 \pm 0,360$ ng/mL, dengan nilai yang relatif mendekati kelompok kontrol negatif. Hal ini

mengindikasikan bahwa pemberian emulgel Calendula pada konsentrasi tersebut belum memberikan penurunan kadar MMP-1 yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol negatif.

Hasil uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa seluruh kelompok memiliki nilai $p > 0,05$ ($K1 = 0,949$; $K2 = 0,083$; $K3 = 0,462$; $K4 = 0,683$), yang berarti data pada masing-masing kelompok berdistribusi normal. Uji homogenitas menggunakan Levene Test menghasilkan $p = 0,148$ ($p > 0,05$), menunjukkan bahwa varians antar kelompok adalah homogen atau setara. Dengan terpenuhinya asumsi normalitas dan homogenitas, analisis dilanjutkan menggunakan One Way ANOVA.

Uji One Way ANOVA menghasilkan nilai $p = 0,004$ ($p < 0,05$), yang mengindikasikan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik antara kadar MMP-1 pada minimal dua kelompok perlakuan. Hal ini mengindikasikan bahwa paparan sinar UV-B dan pemberian emulgel ekstrak Calendula dengan konsentrasi berbeda memberikan pengaruh terhadap kadar MMP-1 pada kulit tikus Wistar jantan. Uji lanjut Post Hoc Tukey HSD dilakukan untuk mengidentifikasi secara lebih rinci perbedaan antar setiap pasangan kelompok perlakuan terhadap kadar MMP-1 pada kulit tikus Wistar jantan yang terpapar sinar UV-B.

Tabel 5.2 Hasil Uji Post Hoc Tukey HSD setelah Perlakuan terhadap Rata-rata Kadar MMP-1

Kelompok	K1	K2	K3	K4
----------	----	----	----	----

K1	-	0,008*	0,025*	0,008*
K2		-	0,949	1,000
K3			-	0,947
K4				-

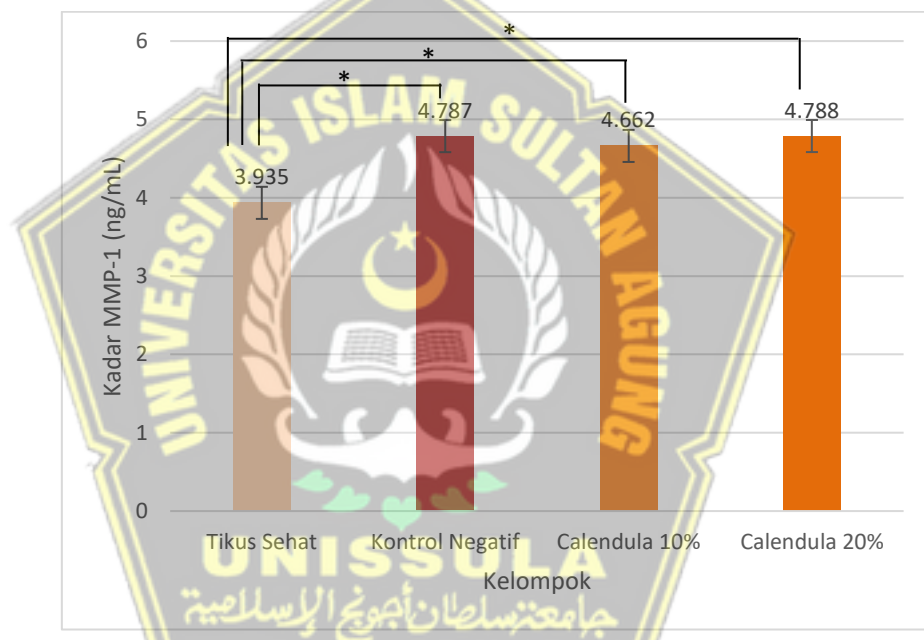
Keterangan: *Bermakna $p \leq 0,05$

Berdasarkan hasil uji lanjut Post Hoc Tukey HSD pada Tabel 5.2, perbandingan kadar MMP-1 antar kelompok menunjukkan bahwa kelompok tikus sehat (K1) memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol negatif (K2) ($p = 0,008$), kelompok perlakuan emulgel ekstrak Calendula 10% (K3) ($p = 0,025$), dan kelompok perlakuan emulgel ekstrak Calendula 20% (K4) ($p = 0,008$). Hal ini mengindikasikan bahwa paparan sinar UV-B, baik tanpa perlakuan maupun dengan pemberian emulgel Calendula, menyebabkan peningkatan kadar MMP-1 yang signifikan dibandingkan kulit normal.

Sebaliknya, tidak ditemukan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif yang hanya diberi base emulgel (K2) dengan kelompok yang mendapat perlakuan emulgel Calendula 10% (K3) ($p = 0,949$) maupun kelompok yang mendapat perlakuan emulgel Calendula 20% (K4) ($p = 1,000$). Demikian pula, kadar MMP-1 pada K3 tidak berbeda signifikan dengan K4 ($p = 0,947$). Temuan ini menunjukkan bahwa pemberian emulgel ekstrak Calendula pada konsentrasi 10% maupun 20% belum mampu menurunkan kadar MMP-1 secara signifikan dibandingkan kontrol negatif, meskipun secara teoritis kandungan antioksidan dan antiinflamasi dalam Calendula diharapkan

dapat menghambat kerusakan kolagen yang diinduksi oleh sinar UV-B.

Hasil ini memperkuat interpretasi bahwa peningkatan kadar MMP-1 pada kulit yang terpapar sinar UV-B lebih dominan dipengaruhi oleh mekanisme *photodamage*, sedangkan efek protektif Calendula pada konsentrasi yang diuji memerlukan durasi pemakaian yang lebih lama, dosis yang lebih tinggi, atau kombinasi dengan agen fotoprotektif lain agar dapat memberikan efek yang signifikan.



Gambar 5.3 Diagram Batang Kadar MMP-9 pada Tiap Kelompok

5.1.3 Hasil Pemeriksaan Kadar MMP-9 pada Darah

Tabel 5.3 Uji Deskriptif Rata-rata Kadar MMP-9 dan One Way ANOVA

Kelompok	Tikus Sehat (K1)	Kontrol Negatif (K2)	Emulgel Calendula 10% (K3)	Emulgel Calendula 20% (K4)	<i>P value</i>
Kadar MMP-9 ng/mL					
Mean	1,062	1,173	1,260	1,228	0,271
SD	0,089	0,171	0,114	0,166	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,993	0,340	0,660	0,372	
<i>Levene Test</i>					

One Way ANOVA

0,104

Keterangan:

Shapiro-Wilk = Data berdistribusi normal ($p > 0,05$)Levene Test = Data homogen ($p > 0,05$)One Way ANOVA = Tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ($p > 0,05$)

Pada penelitian ini, kadar MMP-9 pada darah tikus Wistar jantan yang diinduksi paparan sinar UV-B dan diberikan perlakuan dengan emulgel ekstrak *Calendula officinalis* L. diuji untuk mengevaluasi efeknya terhadap proses inflamasi dan remodeling matriks ekstraseluler. Berdasarkan hasil analisis kadar MMP-9 yang ditampilkan dalam tabel 5.2 dapat dilihat bahwa rata-rata kadar MMP-9 pada setiap kelompok tidak menunjukkan perbedaan signifikan. Kelompok yang terdiri dari tikus sehat (K1) memiliki kadar MMP-9 dengan rata-rata $1,062 \pm 0,089$ ng/mL. Nilai simpangan baku yang kecil ini menunjukkan bahwa data pada kelompok tersebut memiliki penyebaran yang sempit sehingga nilai-nilainya terkonsentrasi di sekitar rata-rata. Sedangkan kelompok kontrol negatif (K2) memiliki rata-rata yang sedikit lebih tinggi, yaitu $1,173 \pm 0,171$ ng/mL. Kelompok yang diberi emulgel Calendula dengan konsentrasi 10% (K3) dan 20% (K4) menunjukkan nilai rata-rata yang lebih tinggi dibandingkan kelompok lain, masing-masing sebesar $1,260 \pm 0,114$ ng/mL dan $1,228 \pm 0,166$ ng/mL. Hal ini dapat disebabkan oleh pemberian ekstrak *Calendula* yang merangsang peningkatan produksi MMP-9 sebagai bagian dari proses penyembuhan atau adaptasi

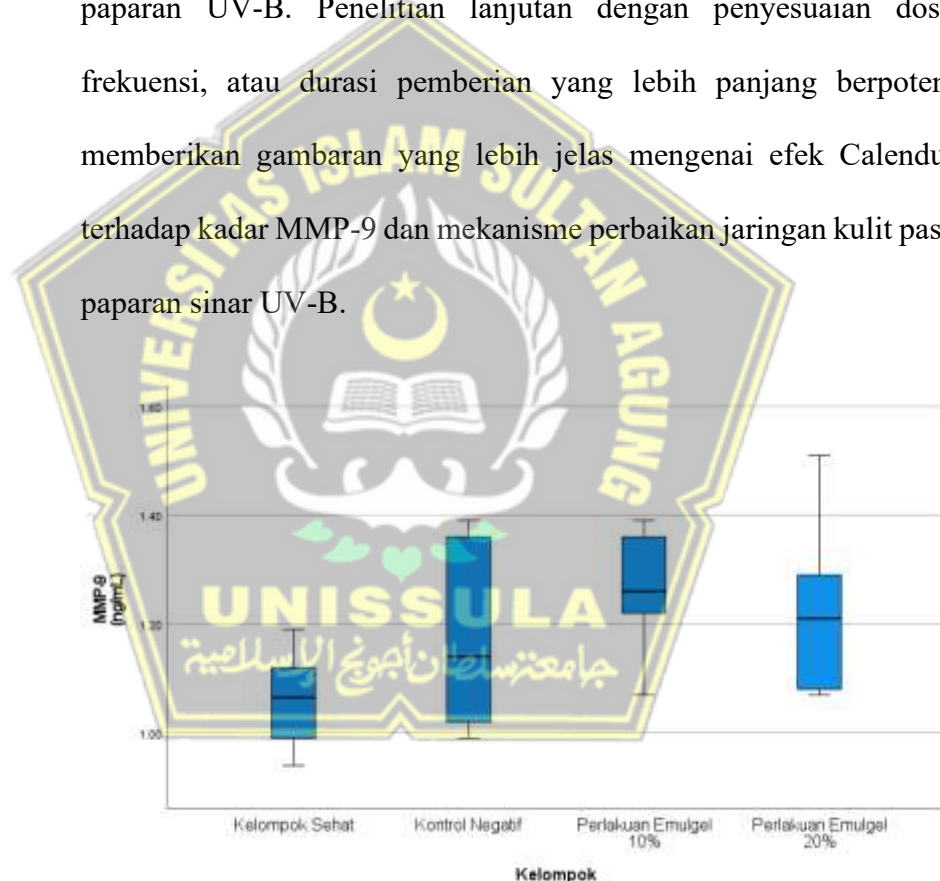
terhadap perubahan yang terjadi akibat paparan UV-B.

Hasil pemeriksaan kadar MMP-9 menunjukkan bahwa seluruh kelompok perlakuan memiliki distribusi data yang normal. Hal ini dibuktikan melalui uji normalitas Shapiro-Wilk, di mana seluruh nilai p yang diperoleh berada di atas 0,05. Kelompok tikus sehat (K1) menunjukkan nilai p tertinggi, yaitu 0,993, diikuti kelompok kontrol positif (K2) sebesar 0,340, kelompok perlakuan emulgel Calendula 10% (K3) sebesar 0,660, dan kelompok perlakuan emulgel Calendula 20% (K4) sebesar 0,372. Temuan ini mengindikasikan bahwa data pada setiap kelompok memiliki pola distribusi yang teratur dan konsisten, sehingga memenuhi salah satu syarat penting untuk dilakukan analisis parametrik.

Selanjutnya, uji homogenitas varians menggunakan Levene Test menunjukkan nilai $p = 0,271$ ($p > 0,05$). Hal ini menandakan bahwa data antar kelompok dapat dianggap homogen yang berarti perbedaan antar kelompok tidak dipengaruhi oleh variasi data yang terlalu besar. Uji One Way ANOVA dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan signifikan kadar MMP-9 antar kelompok perlakuan. Hasil analisis menunjukkan nilai $p = 0,104$, yang lebih besar dari 0,05, sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok tikus sehat, kontrol negatif, maupun kelompok perlakuan dengan emulgel ekstrak Calendula 10% dan 20%. Dengan demikian, pemberian emulgel ekstrak Calendula pada

kedua konsentrasi tersebut belum menunjukkan efek yang signifikan terhadap kadar MMP-9 pada darah tikus yang terpapar sinar UV-B dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Meskipun perbedaan statistik tidak tercapai, temuan ini tidak menutup kemungkinan adanya potensi emulgel ekstrak Calendula dalam mempengaruhi proses inflamasi dan regenerasi jaringan akibat paparan UV-B. Penelitian lanjutan dengan penyesuaian dosis, frekuensi, atau durasi pemberian yang lebih panjang berpotensi memberikan gambaran yang lebih jelas mengenai efek Calendula terhadap kadar MMP-9 dan mekanisme perbaikan jaringan kulit pasca paparan sinar UV-B.



Gambar 5.4 Boxplot Distribusi Kadar MMP-9

Gambar boxplot yang ditampilkan pada Gambar 5.4 memperlihatkan variasi kadar MMP-9 pada setiap kelompok penelitian. Kelompok tikus sehat tampak memiliki kadar MMP-9

yang cenderung lebih rendah dengan sebaran data yang relatif sempit, mencerminkan nilai yang konsisten antar sampel. Pada kelompok kontrol negatif, kadar MMP-9 terlihat lebih tinggi dengan rentang nilai yang lebih lebar, mengindikasikan adanya peningkatan dan variasi akibat paparan sinar UV-B tanpa perlakuan.

Kelompok perlakuan dengan emulgel ekstrak Calendula 10% dan 20% menunjukkan pola kadar MMP-9 yang berada di kisaran nilai kelompok kontrol negatif, dengan rentang sebaran yang bervariasi. Kondisi ini mendukung hasil uji One Way ANOVA yang menunjukkan $p = 0,104$, di mana tidak ditemukan perbedaan bermakna antar kelompok. Dengan demikian, secara visual maupun statistik, pemberian emulgel ekstrak Calendula pada konsentrasi 10% dan 20% belum menunjukkan penurunan kadar MMP-9 yang jelas dibandingkan kelompok kontrol negatif, meskipun potensi efek biologisnya tetap perlu diteliti lebih lanjut.

5.2 Pembahasan

Paparan sinar ultraviolet B (UV-B) memiliki dampak yang signifikan terhadap kesehatan kulit, salah satunya melalui kerusakan matriks ekstraseluler yang disebabkan oleh peningkatan aktivitas matrix metalloproteinases (MMPs).³⁴ Sinar UV-B memicu produksi spesies oksigen reaktif (ROS) yang dapat merusak sel-sel kulit dan memicu proses inflamasi. Proses ini mengaktifkan jalur pensinyalan seperti MAPK, yang pada akhirnya menginduksi produksi MMP-1 dan MMP-9. MMP-1 dikenal sebagai

collagenase, yang berperan dalam degradasi kolagen tipe I, sementara MMP-9 bertanggung jawab atas degradasi kolagen tipe IV dan V, yang penting dalam remodeling kulit setelah kerusakan.³⁵ Peningkatan aktivitas MMP ini merupakan salah satu penyebab utama penuaan kulit dan kerusakan jaringan akibat paparan UV-B.³⁶

Berbagai penelitian mencari solusi alami untuk mengurangi dampak tersebut, salah satunya dengan menggunakan *Calendula officinalis* atau marigold. Bunga ini dikenal luas dalam pengobatan tradisional sebagai tanaman yang memiliki sifat antiinflamasi dan penyembuhan luka. Ekstrak dari bunga ini mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, triterpenoid, dan asam fenolat, yang memiliki potensi untuk melawan kerusakan oksidatif dan mengurangi peradangan pada kulit.³⁷ Beberapa studi sebelumnya telah menunjukkan bahwa ekstrak *Calendula* dapat menurunkan aktivitas MMP, khususnya MMP-2 dan MMP-9, yang diinduksi oleh stres oksidatif akibat paparan UV.³⁸ Oleh karena itu, *Calendula* memiliki potensi sebagai agen topikal untuk perlindungan kulit terhadap kerusakan UV.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh ekstrak *Calendula officinalis* terhadap aktivitas MMP-1 dan MMP-9, dua jenis matrix metalloproteinases yang berperan penting dalam proses remodeling kulit dan degradasi kolagen. Pengukuran kadar MMP-1 dan MMP-9 dilakukan menggunakan teknik ELISA pada sampel darah. ELISA dipilih karena kemampuannya untuk secara akurat mengukur kadar MMP-1 dan MMP-9

dalam serum, yang dapat mencerminkan perubahan serupa yang terjadi di jaringan kulit, tanpa perlu pengambilan sampel jaringan kulit secara langsung.

ELISA merupakan teknik yang umum digunakan untuk mengukur konsentrasi protein spesifik, termasuk MMPs dalam berbagai sampel biologis. Salah satu keuntungan besar dari ELISA adalah kemampuannya untuk menggunakan sampel darah, yang lebih mudah diambil dan dianalisis dibandingkan jaringan kulit. Berdasarkan sejumlah penelitian, kandungan biomarker yang terdapat dalam darah dapat mencerminkan perubahan yang terjadi pada kulit, menjadikan ELISA darah sebagai alat yang efektif untuk memantau proses biologis yang berlangsung di kulit, seperti peradangan dan kerusakan jaringan.³⁹

Hasil pengukuran kadar MMP-1 menggunakan ELISA darah menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok yang diberi perlakuan (emulgel Calendula dan kelompok kontrol) dengan kelompok tikus sehat. Kadar MMP-1 pada kelompok Kontrol Negatif (K2) yang terpapar sinar UV-B dan hanya diberi base gel memiliki kadar MMP-1 yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok Tikus Sehat (K1). Hal ini mengindikasikan bahwa paparan sinar UV-B menyebabkan peningkatan produksi MMP-1 sebagai bagian dari respons tubuh terhadap kerusakan yang diakibatkan oleh UV-B.⁴⁰

Kelompok yang diberi emulgel Calendula 20% (K4) menunjukkan kadar MMP-1 tertinggi di antara kelompok lainnya. Kadar MMP-1 pada kelompok K4 bahkan lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok Kontrol Negatif (K2).

Peningkatan kadar MMP-1 ini sebenarnya tidak selalu dapat dianggap sebagai hal yang merugikan. Hasil ini mengindikasikan bahwa meskipun Calendula dikenal memiliki sifat antiinflamasi dan penyembuhan luka, pada dosis yang lebih tinggi justru dapat merangsang peningkatan produksi MMP-1. Peningkatan tersebut berkaitan dengan peran Calendula dalam mempercepat proses regenerasi kulit, yang memerlukan aktivitas MMP-1 untuk memperbaiki matriks ekstraseluler yang rusak akibat paparan UV-B. Peningkatan MMP-1 pada kulit yang rusak akibat paparan UV juga dapat mencerminkan aktivitas perbaikan jaringan, meskipun diperlukan penelitian lebih lanjut untuk memastikan dampak positifnya dalam regenerasi kulit.⁴¹

Sebaliknya, pada kelompok yang diberikan Perlakuan Emulgel Calendula 10% (K3), kadar MMP-1 lebih rendah dibandingkan dengan K4, namun tetap lebih tinggi daripada kelompok Tikus Sehat (K1). Ini menunjukkan bahwa dosis Calendula yang lebih rendah (10%) dapat memberikan efek yang lebih moderat dalam menurunkan kadar MMP-1 jika dibandingkan dengan dosis yang lebih tinggi (20%). Temuan ini menunjukkan bahwa paparan sinar UV dapat meningkatkan MMP-1, baik sebagai respons tubuh terhadap kerusakan jaringan maupun sebagai reaksi terhadap sifat antiinflamasi dari Calendula.

Hasil pada kadar MMP-9 menunjukkan pola yang serupa dengan MMP-1, di mana kadar MMP-9 pada kelompok Kontrol Negatif (K2) lebih tinggi dibandingkan kelompok Tikus Sehat (K1). Peningkatan kadar MMP-9 pada kelompok K2 ini mengindikasikan respons tubuh terhadap kerusakan jaringan yang disebabkan oleh paparan sinar UV-B, di mana MMP-9 berperan dalam

proses inflamasi dan degradasi matriks ekstraseluler yang rusak akibat sinar tersebut. Sebagai gelatinase, MMP-9 dapat memecah kolagen tipe IV dan komponen matriks lainnya, yang berkontribusi pada perombakan jaringan dan respons inflamasi.³⁴

Pemberian Emulgel Calendula pada kelompok dengan dosis 10% (K3) dan 20% (K4) tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada kadar MMP-9 dibandingkan dengan kelompok Kontrol Negatif (K2). Selain itu, kadar MMP-1 pada kelompok K4 menunjukkan hasil yang paling tinggi memberikan indikasi bahwa dosis yang lebih tinggi justru merangsang peningkatan produksi MMP-1 untuk mendukung proses perbaikan jaringan yang lebih intens.

Hasil ini sejalan dengan pengamatan makroskopis yang menunjukkan bahwa pada kelompok yang diberi Emulgel Calendula dengan dosis 10% (K3), kondisi kulit tikus yang terpapar UV-B mengalami perbaikan sedikit lebih baik dibandingkan dengan perlakuan emulgel Calendula 20% (K4). Dosis Calendula yang lebih rendah pada K3 lebih optimal karena dapat memberikan keseimbangan yang lebih baik antara memperbaiki kerusakan jaringan dan menghindari efek samping yang tidak diinginkan akibat stimulasi berlebihan dari MMP-1.

Meskipun hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dosis Calendula yang diberikan tidak cukup efektif dalam memodulasi MMP-9 secara signifikan, hal ini tidak berarti bahwa hasilnya buruk. Sebaliknya, peningkatan kadar MMP-1 pada kelompok K4 menunjukkan bahwa Calendula dengan dosis tinggi justru merangsang peningkatan aktivitas enzim untuk mendukung proses perbaikan

jaringan yang lebih intens. MMP-1 dan MMP-9 bekerja bersama untuk memecah kolagen menjadi fragmen kecil tetap penting untuk regenerasi jaringan yang optimal.⁴¹ Dilain sisi, dosis yang diberikan dalam penelitian ini tidak cukup efektif untuk memodulasi MMP-9 secara signifikan karena kadar MMP-9 pada K3 dan K4 tidak berbeda jauh dibandingkan dengan kontrol negatif (K2). Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui dosis optimal dan durasi pemberian yang dapat mengatur produksi MMP-1 dan MMP-9 secara efektif tanpa memicu efek yang berlebihan.

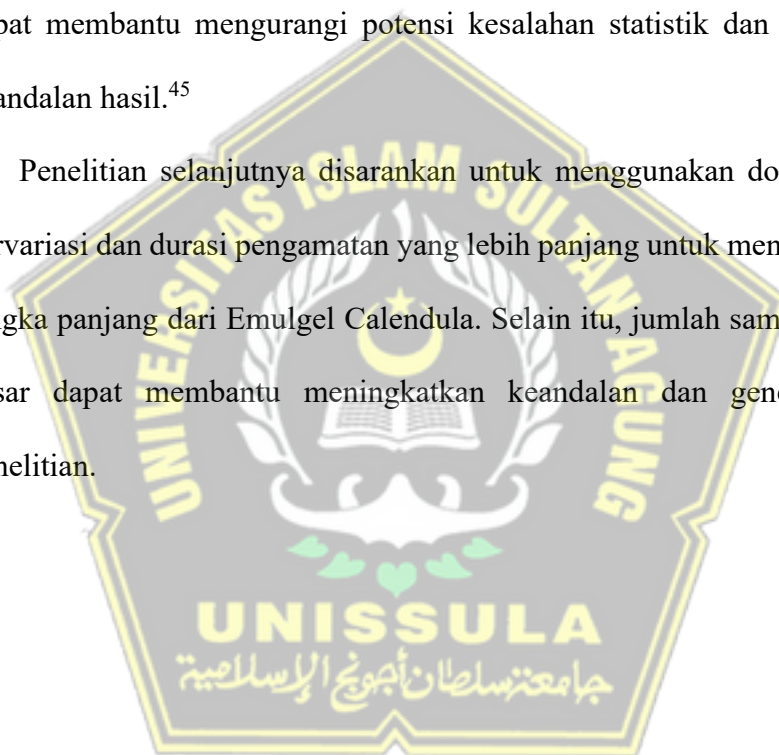
Hasil dari penelitian ini dapat dipengaruhi oleh keterbatasan penelitian, salah satunya adalah variabilitas individu.⁴² Meskipun prosedur perlakuan dilakukan secara seragam, respons fisiologis antara individu bisa berbeda-beda. Hal ini dapat menyebabkan perbedaan data yang besar antara subjek dalam satu kelompok. Selain itu, dosis yang digunakan dalam penelitian ini perlu dievaluasi lebih lanjut. Meskipun dosis Emulgel Calendula 10% (K3) memberikan hasil yang baik, dosis Emulgel Calendula 20% (K4) justru menunjukkan peningkatan yang lebih tinggi pada kadar MMP-1, yang mengindikasikan bahwa dosis yang lebih tinggi dapat merangsang perbaikan jaringan secara intens, namun juga berisiko menimbulkan efek samping inflamasi yang lebih kuat.

Faktor lain yang mempengaruhi hasil pengamatan adalah durasi pengamatan. Durasi pengamatan dalam penelitian ini perlu ditinjau kembali untuk memastikan apakah periode yang digunakan sudah memadai dalam mengevaluasi efek jangka panjang dari perlakuan yang diberikan.⁴³ Perbaikan

kulit dan proses penyembuhan jaringan membutuhkan waktu yang lebih lama, dan efek yang lebih lama dari perlakuan belum sepenuhnya teridentifikasi.

Selain itu, kondisi lingkungan yang tidak dapat sepenuhnya dikendalikan selama eksperimen juga berpotensi memengaruhi hasil, seperti suhu, kelembapan, dan pola makan hewan percobaan yang dapat memengaruhi respons biologis mereka.⁴⁴ Terakhir, penelitian dengan sampel yang lebih besar dapat membantu mengurangi potensi kesalahan statistik dan meningkatkan keandalan hasil.⁴⁵

Penelitian selanjutnya disarankan untuk menggunakan dosis yang lebih bervariasi dan durasi pengamatan yang lebih panjang untuk mengevaluasi efek jangka panjang dari Emulgel Calendula. Selain itu, jumlah sampel yang lebih besar dapat membantu meningkatkan keandalan dan generalisasi hasil penelitian.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Pemberian Emulgel Ekstrak *Calendula officinalis* L. tidak berpengaruh signifikan terhadap kadar MMP-1 dan MMP-9 pada darah tikus yang terpapar sinar UV-B dibandingkan dengan kontrol negatif.
2. Pemberian Emulgel Ekstrak *Calendula officinalis* L. dengan konsentrasi 10% berpengaruh signifikan terhadap peningkatan kadar MMP-1 dibandingkan kelompok sehat, tetapi tidak menunjukkan perbedaan signifikan dengan kontrol negatif untuk kedua kadar MMP-1 dan MMP-9.
3. Pemberian Emulgel Ekstrak *Calendula officinalis* L. dengan konsentrasi 20% berpengaruh signifikan terhadap peningkatan kadar MMP-1 dibandingkan kelompok sehat, namun tidak menunjukkan perbedaan signifikan dengan kontrol negatif untuk kadar MMP-1 dan MMP-9.

6.2 Saran

1. Menggunakan dosis yang lebih bervariasi dalam penelitian selanjutnya untuk menentukan dosis Emulgel Calendula yang paling efektif dalam mengatur kadar MMP-1 dan MMP-9 tanpa meningkatkan produksi berlebihan.
2. Memperpanjang durasi pengamatan untuk mengevaluasi efek jangka panjang dari pemberian Emulgel Calendula terhadap regenerasi jaringan kulit yang terpapar sinar UV-B.

3. Melibatkan variasi model hewan pada penelitian selanjutnya, termasuk pengujian pada spesies atau kelompok usia yang berbeda, guna mendapatkan gambaran yang lebih luas tentang efek Calendula dalam berbagai kondisi biologis.
4. Menguji kombinasi Emulgel Calendula dengan bahan aktif lain untuk melihat apakah kombinasi tersebut dapat memberikan efek yang lebih maksimal dalam mempercepat penyembuhan luka dan regenerasi kulit.
5. Menggunakan sampel yang lebih besar pada penelitian selanjutnya untuk meningkatkan keakuratan hasil dan mengurangi variabilitas individu, sehingga data yang diperoleh lebih representatif dan dapat digeneralisasi dengan lebih baik.



DAFTAR PUSTAKA

1. Michalak M. Plant Extracts as Skin Care and Therapeutic Agents. Vol. 24, International Journal of Molecular Sciences. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023.
2. Hu X, Chen M, Nawaz J, Duan X. Regulatory Mechanisms of Natural Active Ingredients and Compounds on Keratinocytes and Fibroblasts in Mitigating Skin Photoaging. Vol. 17, Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology . Dove Medical Press Ltd; 2024. p. 1943–62.
3. Lee SE, Kwon TR, Kim JH, Lee BC, Oh CT, Im M, et al. Anti-photoaging and anti-oxidative activities of natural killer cell conditioned medium following UV-B irradiation of human dermal fibroblasts and a reconstructed skin model. Int J Mol Med. 2019;44(5):1641–52.
4. Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, Rosa CCD La, Ramirez-Acuña JM, Perez-Romero BA, Guerrero-Rodriguez JF, et al. The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases. Int J Mol Sci. 2020 Dec 2;21(24):1–53.
5. Feng C, Chen X, Yin X, Jiang Y, Zhao C. Matrix Metalloproteinases on Skin Photoaging. Journal of Cosmetic Dermatology. John Wiley and Sons Inc; 2024.
6. Belal A, Elanany MA, Raafat M, Hamza HT, Mehany ABM. Calendula officinalis Phytochemicals for the Treatment of Wounds Through Matrix Metalloproteinases-8 and 9 (MMP-8 and MMP-9): In Silico Approach. Nat Prod Commun. 2022 May 1;17(5).
7. Rezai S, Rahzani K, Hekmatpou D, Rostami A. Effect of oral Calendula officinalis on second-degree burn wound healing . Scars Burn Heal. 2023 Jan;9:205951312211340.
8. Penelitian Sains dan Kesehatan Avicenna J, Khotimah H, Ariani N, Maimunah L, Studi Keperawatan P, Teknologi adan KesehatanaAvicenna I, et al. Pengaruh Ekstrak Calendula Officinalis Terhadap Lama Penyembuhan Luka Sayat Pada Tikus Putih (Rattus Norvegicus).
9. Prabhu Venkatesh D, S G, Ramani P, S R, Ramalingam K. In Vitro Evaluation of Antioxidant and Anti-inflammatory Potentials of Herbal Formulation Containing Marigold Flower (Calendula officinalis L.) Tea. Cureus. 2023 Aug 11;
10. Rohmani S, Mar'atushsholihah L, Darojati UA, Meitasari AD, Susanto BNA. Formulation and Activity of Sunscreen Cream from Ethanol Extract of Calendula officinalis L Flowers. Jurnal Sains Farmasi & Klinis [Internet]. 2024 Jun 30;11(1):48–57. Available from: <https://jsfk.ffarmasi.unand.ac.id/index.php/jsfk/article/view/1547>
11. Kim JH, Jeong HD, Song MJ, Lee DH, Chung JH, Lee ST. SOD3 Suppresses the Expression of MMP-1 and Increases the Integrity of Extracellular Matrix in Fibroblasts. Antioxidants. 2022 May 1;11(5).
12. Potekaev NN, Borzykh OB, Medvedev G V., Pushkin D V., Petrova MM,

- Petrov A V., et al. The role of extracellular matrix in skin wound healing. *J Clin Med*. 2021 Dec 1;10(24).
13. Alven A, Lema C, Redfern RL. Impact of Low Humidity on Damage-associated Molecular Patterns at the Ocular Surface during Dry Eye Disease. *Optometry and Vision Science*. 2021 Nov 1;98(11):1231–8.
 14. Alge-Priglinger CS, Kreutzer T, Obholzer K, Wolf A, Mempel M, Kernt M, et al. Oxidative stress-mediated induction of MMP-1 and MMP-3 in human RPE cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009 Nov;50(11):5495–503.
 15. Chaiprasongsuk A, Lohakul J, Soontrapa K, Sampattavanich S, Akarasereenont P, Panich U. Activation of Nrf2 reduces UVA-mediated MMP-1 upregulation via MAPK/AP-1 signaling cascades: The photoprotective effects of sulforaphane and hispidulins. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2017 Mar 1;360(3):388–98.
 16. Dagistan Y, Cukur S, Dagistan E, Gezici AR. Importance of IL-6, MMP-1, IGF-1, and BAX levels in lumbar herniated disks and posterior longitudinal ligament in patients with sciatic pain. *World Neurosurg*. 2015 Dec 1;84(6):1739–46.
 17. Wang Y, Shen X, Song S, Chen Y, Wang Y, Liao J, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes and skin photoaging: From basic research to practical application. Vol. 39, *Photodermatology Photoimmunology and Photomedicine*. John Wiley and Sons Inc; 2023. p. 556–66.
 18. Wang Y, Jiao L, Qiang C, Chen C, Shen Z, Ding F, et al. The role of matrix metalloproteinase 9 in fibrosis diseases and its molecular mechanisms. Vol. 171, *Biomedicine and Pharmacotherapy*. Elsevier Masson s.r.l.; 2024.
 19. Hernandez-Anzaldo S, Brglez V, Hemmeryckx B, Leung D, Filep JG, Vance JE, et al. Novel role for matrix metalloproteinase 9 in modulation of cholesterol metabolism. *J Am Heart Assoc*. 2016 Oct 1;5(10).
 20. Yabluchanskiy A, Ma Y, Iyer RP, Hall ME, Lindsey ML. Matrix metalloproteinase-9: Many shades of function in cardiovascular disease. Vol. 28, *Physiology*. 2013. p. 391–403.
 21. Pandey P, Despande B, Sarkar AK. A Pharmacological Study on the Effect of *Calendula officinalis* Leaf Extract on Excision Wound Healing in Swiss Albino Mice. *Asian Pacific Journal of Health Sciences*. 2022 Apr 1;9(2):109–13.
 22. Ejiohuo O, Folami S, Maigoro AY. *Calendula* in modern medicine: Advancements in wound healing and drug delivery applications. Vol. 12, *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*. Elsevier Masson s.r.l.; 2024.
 23. Lotfollahi Z. The anatomy, physiology and function of all skin layers and the impact of ageing on the skin. Vol. 32, *Wound Practice and Research*. Cambridge Media; 2024. p. 6–10.
 24. Pfisterer K, Shaw LE, Symmank D, Weninger W. The Extracellular Matrix in Skin Inflammation and Infection. Vol. 9, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. Frontiers Media S.A.; 2021.
 25. Mishra AK, Mishra A, Verma A, Chattopadhyay P. Effects of *Calendula* essential oil-based cream on biochemical parameters of skin of albino rats

- against ultraviolet B radiation. *Sci Pharm*. 2012;80(3):669–83.
26. Fonseca YM, Catini CD, Vicentini FTMC, Nomizo A, Gerlach RF, Fonseca MJV. Protective effect of *Calendula officinalis* extract against UVB-induced oxidative stress in skin: Evaluation of reduced glutathione levels and matrix metalloproteinase secretion. *J Ethnopharmacol*. 2010 Feb;127(3):596–601.
 27. Radovanović K, Gavarić N, Aćimović M. Anti-inflammatory properties of plants from Serbian traditional medicine. 2023; Available from: www.mdpi.com/journal/life
 28. Widiyanto B, Yuniarifa C, Purnamasari R. EFEK PERLINDUNGAN EKSTRAK BUNGA TELANG (*CLITORIA TERNATEA* L.) TERHADAP DENSITAS KOLAGEN DARI PAPARAN SINAR UVB. *JUSINDO*. 2024;6(1).
 29. Hunt M, Torres M, Bachar-Wikstrom E, Wikstrom JD. Cellular and molecular roles of reactive oxygen species in wound healing. Vol. 7, *Communications Biology*. Nature Research; 2024.
 30. Hussien NH amin, Abdulla SK, Ali NM, Ahmed VA, Hasan AH, Qadir EE. Role of antioxidants in skin aging and the molecular mechanism of ROS: A comprehensive review. Vol. 5, *Aspects of Molecular Medicine*. Elsevier B.V.; 2025.
 31. Naveed A, uz Zaman S, Ali Khan B, shoaib Khan HM, Akhtar N, Khan S, et al. Evaluation of various functional skin parameters using a topical cream of *Calendula officinalis* extract. *Article in African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2011;5(2):199–206.
 32. Rosita C, Prakoeswa S. Wistar Rat as Photoaging Mouse Model. Vol. 33, *Journal of Pakistan Association of Dermatologists*. 2023.
 33. Krissanti I, Hanifa R, Dwiwina RG. Efektivitas dan Pengaruh Kombinasi Anestesi Ketamine-Xylazine pada Tikus (*Rattus norvegicus*). *Gunung Djati Conference Series [Internet]*. 2023;18. Available from: <https://conference.uinsgd.ac.id/index.php/Telp/Fax>:
 34. Kim DJ, Iwasaki A, Chien AL, Kang S. UVB-mediated DNA damage induces matrix metalloproteinases to promote photoaging in an AhR- and SP1-dependent manner. *JCI Insight*. 2022 May 9;7(9).
 35. Feng C, Chen X, Yin X, Jiang Y, Zhao C. Matrix Metalloproteinases on Skin Photoaging. *J Cosmet Dermatol*. 2024 Dec 4;23(12):3847–62.
 36. Hanai U, Kawabata K, Tsunoda Y, Nemoto H, Imagawa K, Kusaka-Kikushima A, et al. Relationship Between Epidermal Matrix Metalloproteinase-1 and Dermal Collagen Reduction in Skin Subjected to Chronic Sun Exposure. *J Clin Med*. 2025 Feb 20;14(5):1433.
 37. Shahane K, Kshirsagar M, Tambe S, Jain D, Rout S, Ferreira MKM, et al. An Updated Review on the Multifaceted Therapeutic Potential of *Calendula officinalis* L. *Pharmaceuticals*. 2023 Apr 18;16(4):611.
 38. Fonseca YM, Catini CD, Vicentini FTMC, Cardoso JC, Cavalcanti De Albuquerque Junior RL, Vieira Fonseca MJ. Efficacy of Marigold Extract-Loaded Formulations Against UV-induced Oxidative Stress. *J Pharm Sci*. 2011 Jun;100(6):2182–93.
 39. Matson RS. Interference in ELISA. In: Matson RS, editor. *ELISA: Methods*

- and Protocols*. 2023. p. 91–9. Springer Nature.
40. Lee JS, Min JW, Gye SB, Kim YW, Kang HC, Choi YS, et al. Suppression of UVB-Induced MMP-1 Expression in Human Skin Fibroblasts Using Lysate of *Lactobacillus iners* Derived from Korean Women's Skin in Their Twenties. *Curr Issues Mol Biol*. 2024 Jan 4;46(1):513–26.
 41. Fonseca YM, Catini CD, Vicentini FTMC, Nomizo A, Gerlach RF, Fonseca MJV. Protective effect of *Calendula officinalis* extract against UVB-induced oxidative stress in skin: Evaluation of reduced glutathione levels and matrix metalloproteinase secretion. *J Ethnopharmacol*. 2010 Feb;127(3):596–601.
 42. Anagnostou VK, Welsh AW, Giltnane JM, Siddiqui S, Lioeaga C, Gustavson M, et al. Analytic variability in immunohistochemistry biomarker studies. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*. 2010 Apr;19(4):982–91.
 43. Raudenbush SW, Liu XF. Effects of study duration, frequency of observation, and sample size on power in studies of group differences in polynomial change. *Psychol Methods*. 2001;6(4):387–401.
 44. von Kortzfleisch VT, Karp NA, Palme R, Kaiser S, Sachser N, Richter SH. Improving reproducibility in animal research by splitting the study population into several 'mini-experiments.' *Sci Rep*. 2020 Oct 6;10(1):16579.
 45. Netz Y, Lidor R, Ziv G. Small samples and increased variability – discussing the need for restricted types of randomization in exercise interventions in old age. *European Review of Aging and Physical Activity*. 2019 Dec 27;16(1):17.

