

**PENGARUH EKSTRAK *CENTELLA ASIATICA*
TERHADAP EKSPRESI MDA DAN KADAR 8-OHdG
(Studi Eksperimental pada Tikus Wistar yang Dipapar UVB)**

Tesis

Untuk memenuhi persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Bonita Purnamasari

MBK.23.22.010398

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

2025

TESIS

**PENGARUH EKSTRAK *CENTELLA ASIATICA*
TERHADAP EKSPRESI MDA DAN KADAR 8-OHdG
(Studi Eksperimental pada Tikus Wistar yang Dipapar UVB)**

Disusun Oleh

Bonita Purnamasari

MBK.23.22.010398

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 6 November 2025
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II


Dr. dr. Prasetyadi Mawardi, Sp.D.V.
E,Subsp.Ven. FINSDDV, FAADV
NIP. 196112101990031005


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

Mengetahui,

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



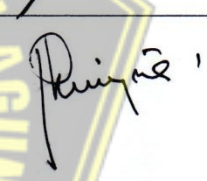
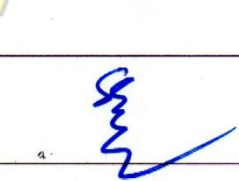

Dr. dr. Eko Setiawan Sp.B., FINACS
NIP. 210113160

LEMBAR PENGESAHAN DEWAN PENGUJI

Laporan Tesis Dengan Judul “PENGARUH EKSTRAK CENTELLA ASIATICA TERHADAP EKSPRESI MDA DAN KADAR 8-OHDG (Studi Eksperimental pada Tikus Wistar yang dipapar UVB)” ini telah dipertahankan di depan Penguji Sidang Akhir pada :

Hari : Kamis

Tanggal : 6 November 2025

NO	NAMA	JABATAN	TANDA TANGAN
1.	Prof. Dr. Dra. Atina Hussana, M. Si. Apt	Penguji I	
2.	Prof. Dr. Dr. Prasetyowati Subchan, Sp. DVE, Subsp.D.K.E, FINSADV FAADV	Penguji II	
3.	Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes	Penguji III	
4.	Dr. dr. Prasetyadi Mawardi, Sp.D.V.E, Subsp.Ven. FINSADV,FAADV	Pembimbing I	
5.	Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes	Pembimbing II	

PERNYATAAN

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



Yogyakarta, Oktober 2025



Bonita Purnamasari
MBK.23.22.010398

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Bonita Purnamasari
Tempat / tanggal lahir : Yogyakarta, 8 Juli 1992
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK Budi Mulia Yogyakarta : Lulus pada tahun 1998
2. SD Muhammadiyah Condongcatur : Lulus pada tahun 2004
3. SMP Muhammadiyah 2 Yogyakarta : Lulus pada tahun 2007
4. SMA N 11 Yogyakarta : Lulus pada tahun 2010
5. S1 Fakultas Kedokteran UGM : Lulus pada tahun 2014
6. Profesi Dokter UGM Yogyakarta : Lulus pada tahun 2016
7. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : 2023 – 2025

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Suami : Ragil Yuliatmoko, S.H
2. Nama Anak : Kai Adskhan Nitimanta
Raline Saida Charvi

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul Pengaruh Ekstrak *Centella asiatica* terhadap Ekspresi Mda dan Kadar 8-OHdG (Studi Eksperimental pada Tikus Wistar yang Dipapar UVB) ini. Penulisan tesis ini merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Program Magister Biomedik di Universitas Islam Sultan Agung.

Tesis ini tidak akan terwujud tanpa dukungan, bimbingan, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Gunarto, S.H., M.Hum, selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang
2. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi Sp.F. SH, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang
3. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B., FINACS, selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang
4. Dr. dr. Prasetyadi Mawardi, Sp.D.V.E, Subsp.Ven.FINSDDV,FAADV, selaku pembimbing utama, yang telah memberikan arahan, saran, dan motivasi selama proses penulisan tesis ini.
5. Dr. dr. Hadi Sarosa,M.Kes, selaku pembimbing pendamping, yang telah memberikan masukan berharga dan evaluasi yang konstruktif.
6. Prof. Dr. Dra. Atina Hussana, M.Si. Apt selaku penguji I, yang telah memberi masukan, mendukung, serta mengarahkan penulis sehingga penulis

termotivasi untuk menyelesaikan tesis ini dengan baik.

7. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp. DVE, Subsp. D.K.E, FINSADV, FAADV, selaku penguji II yang telah memberi masukan, mendukung, serta mengarahkan penulis sehingga penulis termotivasi untuk menyelesaikan tesis ini dengan baik.
8. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes selaku penguji III, yang telah memberi masukan, mendukung, serta mengarahkan penulis sehingga penulis termotivasi untuk menyelesaikan tesis ini dengan baik.
9. Seluruh tenaga pendidik dan staff administrasi di Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang secara langsung atau tidak langsung telah memberi bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan penulisan tesis ini.
10. Rekan-rekan mahasiswa dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, yang telah memberikan dukungan baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat terbuka terhadap kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan di masa mendatang. Semoga tesis ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca dan menjadi kontribusi positif dalam bidang ilmu kedokteran biomedik.

Yogyakarta, Oktober 2025

Bonita Purnamasari

ABSTRAK

Latar Belakang: Paparan ultraviolet B (UVB) memicu stres oksidatif, menyebabkan kerusakan membran yang ditandai oleh *Malondialdehida* (MDA) dan kerusakan DNA oksidatif yang ditandai oleh 8-OHdG. *Centella asiatica* (*C. asiatica*) memiliki potensi antioksidan untuk melawan kerusakan ini.

Tujuan: Menganalisis pengaruh krim ekstrak *C. asiatica* 5% dan 10% terhadap ekspresi MDA dan kadar 8-OHdG pada kulit tikus Wistar yang dipaparkan UVB.

Metode: Penelitian eksperimental *in vivo* (*post-test only control group*) menggunakan 25 tikus Wistar dibagi 5 kelompok ($n=5$): K1 (Sehat), K2 (UVB+Vehikulum), K3 (UVB+Niacinamide 5%), K4 (UVB+*C. asiatica* 5%), dan K5 (UVB+*C. asiatica* 10%). Paparan UVB diberikan selama 14 hari, diikuti aplikasi krim topikal 14 hari. Kadar 8-OHdG diukur dengan ELISA, dan ekspresi MDA dengan Imunohistokimia (IHC).

Hasil: Terdapat perbedaan kadar 8-OHdG yang signifikan secara statistik antar kelompok ($p=0,0031$). Kelompok K2 (*Vehikulum*) memiliki kadar 8-OHdG (11,82pg/mL) yang terukur tinggi. Kelompok K3 (Niacinamide) (7,57pg/mL) dan K4 (*C. asiatica* 5%) (7,99pg/mL) menunjukkan kadar yang jauh lebih rendah. Kadar pada K5 (*C. asiatica* 10%) (11,76pg/mL) serupa dengan K2. Pada ekspresi MDA, tidak ada perbedaan statistik yang signifikan ($p=0,7923$). Secara deskriptif, rerata K5 (21,59%) teramat dekat dengan kelompok K1 (Sehat) (19,90%).

Kesimpulan: Pemberian krim *C. asiatica* 5% menunjukkan efek protektif yang potensial terhadap parameter kerusakan DNA (8-OHdG). *C. asiatica* 10% tidak menunjukkan efek pada 8-OHdG namun menunjukkan tren protektif pada parameter peroksidasi lipid (MDA).

Kata Kunci: *Centella asiatica*, 8-OHdG, MDA, UVB, Stres Oksidatif

ABSTRACT

Background: Ultraviolet B (UVB) exposure triggers oxidative stress, causing membrane damage marked by Malondialdehyde (MDA) and oxidative DNA damage marked by 8-OHdG. *Centella asiatica* (*C. asiatica*) has antioxidant potential to counter this damage.

Objectives: To analyze the effect of 5% and 10% *C. asiatica* extract cream on MDA expression and 8-OHdG levels in UVB-exposed Wistar rat skin.

Methods: This in vivo experimental post-test only control group study used 25 Wistar rats divided into 5 groups (n=5): K1 (Healthy), K2 (UVB+Vehicle), K3 (UVB+Niacinamide 5%), K4 (UVB+*C. asiatica* 5%), and K5 (UVB+*C. asiatica* 10%). UVB exposure was administered for 14 days, followed by 14 days of topical application. 8-OHdG levels were measured by ELISA, and MDA expression by Immunohistochemistry (IHC).

Results: A statistically significant difference in 8-OHdG levels was found among groups ($p=0.0031$). The K2 (Vehicle) group's 8-OHdG level was 11.82 pg/mL. Levels in the K3 (Niacinamide) (7.57 pg/mL) and K4 (*C. asiatica* 5%) (7.99 pg/mL) groups were substantially lower. The level in K5 (*C. asiatica* 10%) was 11.76 pg/mL, similar to K2. For MDA expression, no significant statistical difference was found ($p=0.7923$). Descriptively, the mean for K5 (21.59%) was observed near the K1 (Healthy) group level (19.90%).

Conclusion: The 5% *C. asiatica* cream application showed a potential protective effect against the DNA damage parameter (8-OHdG). Conversely, 10% *C. asiatica* showed no protective effect on 8-OHdG but showed a protective trend for the lipid peroxidation parameter (MDA).

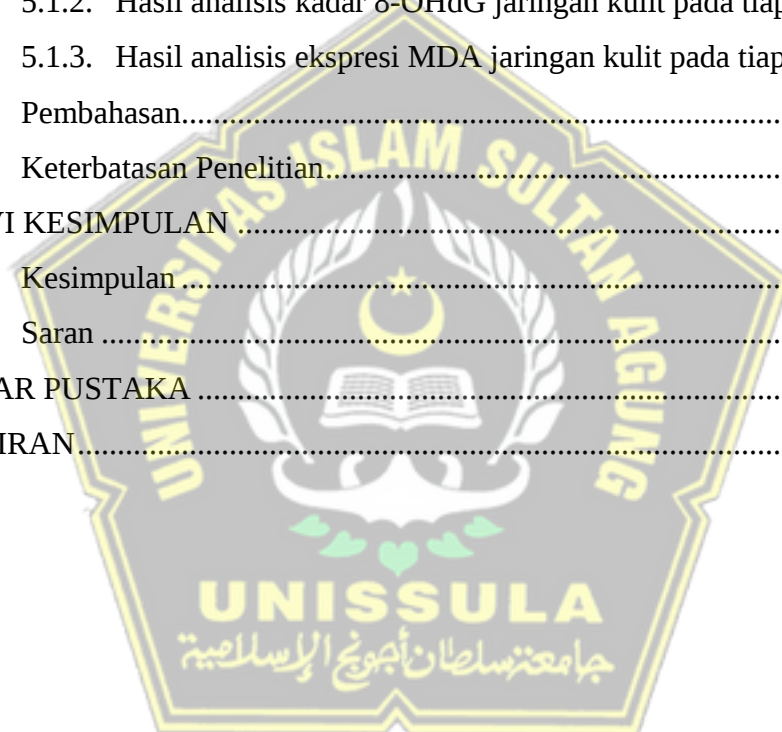
Keywords: *Centella asiatica*, 8-OHdG, MDA, UVB, Oxidative Stress

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN DEWAN PENGUJI	iii
PERNYATAAN.....	iv
RIWAYAT HIDUP.....	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Masalah Penelitian	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	4
1.5. Originalitas Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1. Malondialdehida (MDA)	10
2.1.1. Definisi.....	10
2.1.2. Peran MDA pada <i>photoaging</i> akibat UVB	12
2.2. 8-Hidroksi-2-Deoksiganosin (8-OHdG)	13
2.2.1. Definisi	13

2.2.2. Peran 8-OHdG pada <i>photoaging</i> akibat UVB.....	16
2.3. Radiasi Ultraviolet B (UVB)	18
2.3.1. Definisi dan karakteristik radiasi UVB	18
2.3.2. Efek paparan UVB pada kulit.	20
2.4. Stres Oksidatif pada Kulit karena Paparan UVB	23
2.4.1. Pembentukan Radikal Bebas.....	23
2.5. <i>Centella asiatica</i>	27
2.5.1. Deskripsi tanaman <i>Centella asiatica</i>	27
2.5.2. Kandungan Senyawa Bioaktif <i>Centella asiatica</i>	28
2.6. Potensi Anti-oksidan Ekstrak <i>Centella asiatica</i>	31
BAB III KERANGKA TEORI DAN KERANGKA KONSEP.....	37
3.1. Kerangka Teori	37
3.2. Kerangka Konsep.....	40
3.3. Hipotesis Penelitian	40
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	41
4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	41
4.2. Populasi dan Sampel Penelitian	41
4.2.1. Populasi Penelitian	41
4.2.2. Sampel Penelitian.....	42
4.2.3. Kriteria Inklusi dan <i>Drop-out</i>	42
4.3. Variabel dan Definisi Operasional Penelitian.....	43
4.3.1. Variabel Penelitian	43
4.3.2. Definisi Operasional Penelitian.....	43
4.4. Bahan atau Materi Penelitian	46
4.4.1. Bahan Penelitian.....	46
4.4.2. Materi Penelitian	47
4.5. Cara Penelitian	47
4.6. Alur Penelitian	51
4.7. Teknik Pengumpulan Data Penelitian.....	52
4.7.1. Cara Pengumpulan Data Penelitian.....	52
4.7.2. Besar Sampel.....	52

4.7.3. Pengambilan Sampel Jaringan	53
4.7.4. Analisis Kadar 8-OHdG menggunakan ELISA	53
4.7.5. Analisis ekspresi MDA menggunakan IHC	53
4.8. Metode analisis data.....	55
4.9. Jadwal Pelaksanaan Penelitian.....	56
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	57
5.1. Hasil Penelitian	57
5.1.1. Evaluasi Makroskopis Kulit Punggung Tikus	57
5.1.2. Hasil analisis kadar 8-OHdG jaringan kulit pada tiap kelompok 59	
5.1.3. Hasil analisis ekspresi MDA jaringan kulit pada tiap kelompok.62	
5.2. Pembahasan.....	67
5.3. Keterbatasan Penelitian.....	70
BAB VI KESIMPULAN	71
6.1. Kesimpulan	71
6.2. Saran	71
DAFTAR PUSTAKA	73
LAMPIRAN.....	81



DAFTAR SINGKATAN

8-OHdG	: 8-hidroksi-2-deoksiguanosin
AA	: Asam Asiatik
AD	: Asiaticoside
CA	: <i>Centella asiatica</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
GPx	: <i>Gluthatione peroxidase</i>
GSH	: <i>Gluthatione</i>
LOS	: <i>Lipid Oxygen Species</i>
MA	: Asam Madecassic
MD	: <i>Madecassoside</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
MiRNA	: Mikro RNA
MMP	: <i>Matrix Metalloproteinase</i>
NO	: Nitrat Oksida
NRF-2	: <i>Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2</i>
ONOO-	: Peroksinitrit
RNS	: <i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROS	: Reaktif oksigen
SOD	: <i>Superoxide dismutase</i>
SPF	: <i>Sun Protection Factor</i>
TNF-alpha	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
UVB	: Ultraviolet B

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian.....	5
Tabel 2.1. Profil Fitokimiawi ekstrak <i>Centella asiatica</i>	31
Tabel 4.1. Formulasi Basis Krim	48
Tabel 5.1. Hasil pengukuran kadar 8-OHdG pada berbagai kelompok	60
Tabel 5.2. Hasil uji <i>Post-Hoc</i> Dunn kadar 8-OHdG	61
Tabel 5.3. Hasil pengukuran ekspresi MDA pada berbagai kelompok.....	63



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Tanaman Pegagan (<i>Centella asiatica</i>).....	27
Gambar 3.1.	Kerangka Teori.....	39
Gambar 3.2.	Kerangka Konsep	40
Gambar 4.1.	Alur Penelitian	51
Gambar 5.1.	Progresi Perubahan Makroskopis Kulit Punggung Tikus Akibat Paparan UVB.....	59
Gambar 5.2.	Grafik rata-rata kadar 8-OHdG setiap kelompok perlakuan	62
Gambar 5.3.	Grafik rata-rata ekspresi MDA setiap kelompok.....	65
Gambar 5.4.	Gambaran Histopatologi Ekspresi MDA pada Jaringan Kulit Tikus.....	66



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Izin Etik Penelitian	81
Lampiran 2. Keterangan Hasil Penelitian dari Lab IBL & UNS.....	82
Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian	87
Lampiran 4. Dokumentasi Hasil Mikroskopis Imunohistokimia	96
Lampiran 5. Statistik Kadar 8-OhdG Dan Ekspresi MDA.....	99



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Paparan radiasi ultraviolet B (UVB) merupakan pemicu kerusakan kulit, yang dapat mengakibatkan penuaan dini (*photoaging*) dan keganasan seperti kanker kulit non-melanoma ^{1,2}. Pada tingkat molekuler, kerusakan Pada membran sel oleh karena peroksidasi lipid menghasilkan malondialdehyde (MDA) ³, sedangkan kerusakan DNA menyebabkan lesi pre-mutagenik seperti 8-hidroksi-2'-deoksiguanosin (8-OHdG) ⁴.

Centella asiatica sebagai antioksidan dapat menghambat reactive oxygen species (ROS) dan mencegah kerusakan DNA ^{3,5}. Dosis optimal *Centella asiatica* sebagai anti oksidan masih perlu penelitian lebih lanjut, jika dibandingkan secara langsung dengan agen standar seperti *niacinamide*, yang bekerja dengan mendukung metabolisme energi seluler, dalam mencegah dua bentuk kerusakan molekuler yang berbeda (kerusakan membran vs. kerusakan genomik) tersebut dalam satu model *in vivo*. Investigasi ini penting untuk menentukan strategi perlindungan mana yang lebih unggul untuk setiap titik akhir patologis spesifik.

Kaskade kerusakan akibat UVB dimulai ketika fotonnya diserap oleh kulit, memicu lonjakan ROS yang melampaui pertahanan antioksidan endogen ^{1,5}. ROS ini kemudian menyebabkan peroksidasi lipid pada membran sel, menghasilkan MDA sebagai penanda kerusakan, serta mengoksidasi basa DNA menjadi lesi pre-mutagenik 8-OHdG ⁶. Selain itu,

stres oksidatif ini juga mengaktifkan jalur pensinyalan yang berujung pada degradasi kolagen dermal oleh matrix metalloproteinases (MMP), yang menyebabkan tanda-tanda *photoaging* seperti kerutan ³. *Centella asiatica* merupakan sumber triterpen bioaktif yang memberikan fotoproteksi dengan memodulasi jalur pertahanan seluler ³. Senyawa ini mengaktifkan faktor transkripsi Nrf2 untuk meningkatkan enzim antioksidan endogen, sekaligus menghambat jalur MAPK/AP-1 yang diinduksi UVB untuk mencegah degradasi kolagen oleh MMP ^{1,3}.

Sebagai pembanding, *niacinamide* (Vitamin B3) digunakan sebagai kontrol positif dengan mekanisme aksi yang berbeda ^{7,8}. Sebagai prekursor NAD⁺, *niacinamide* berperan penting dalam metabolisme energi seluler ⁸. Paparan UVB menguras energi sel (ATP) yang diperlukan untuk perbaikan DNA. Dengan mengisi kembali cadangan NAD⁺, *niacinamide* menyediakan bahan bakar metabolik untuk meningkatkan efisiensi perbaikan lesi DNA seperti 8-OHdG ⁷⁻⁹. Perbandingan ini memungkinkan evaluasi apakah strategi modulasi stres (*Centella asiatica*) lebih efektif daripada dukungan energi seluler (*niacinamide*) dalam melawan kerusakan akibat UVB.

Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi dan membandingkan secara kuantitatif efikasi ekstrak *Centella asiatica* topikal 5% dan 10 % dengan *niacinamide* 5% dan kelompok kontrol UVB + krim vehikulum dalam menekan ekspresi MDA dan kadar 8-OHdG pada kulit tikus Wistar yang diinduksi paparan UVB, guna memberikan wawasan mekanistik yang lebih jelas mengenai strategi fotoproteksi kulit.

1.2. Masalah Penelitian

Bagaimana pengaruh ekstrak *Centella asiatica* konsentrasi 5% dan 10% terhadap ekspresi MDA dan kadar 8-OHdG pada kulit tikus Wistar yang dipapar UVB dibandingkan dengan *niacinamide* 5% sebagai kontrol positif dan kelompok kontrol UVB + krim vehikulum sebagai kontrol negatif?

1.3. Tujuan penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh krim ekstrak *Centella asiatica* terhadap ekspresi MDA dan 8-OHdG pada tikus wistar yang terpapar UVB dibandingkan kontrol.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Membuktikan pengaruh ekstrak *Centella asiatica* dengan konsentrasi 5% dan 10% terhadap ekspresi MDA pada kulit tikus wistar yang terpapar radiasi UVB dibandingkan kontrol.
2. Membuktikan pengaruh ekstrak *Centella asiatica* dengan konsentrasi 5% dan 10% terhadap kadar 8-OHdG pada kulit tikus wistar yang terpapar radiasi UVB dibandingkan kontrol.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

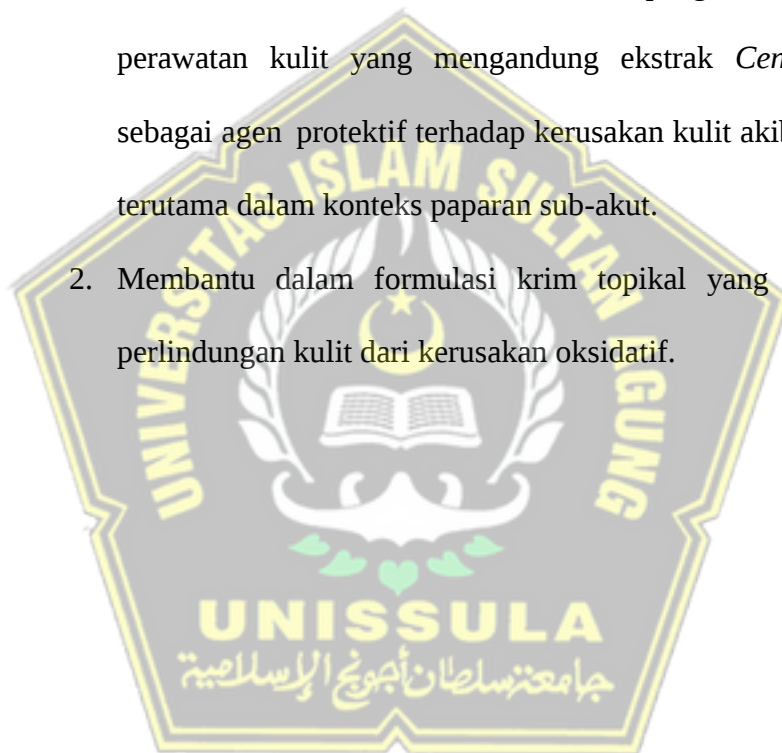
1. Menambah pemahaman tentang mekanisme perlindungan kulit oleh ekstrak *Centella asiatica* terhadap kerusakan akibat radiasi

UVB.

2. Menyediakan data ilmiah tentang pengaruh *Centella asiatica* terhadap ekspresi MDA dan kadar 8-OHdG dalam konteks paparan UVB sub-akut..

1.4.2. Manfaat Praktis

1. Memberikan dasar ilmiah untuk pengembangan produk perawatan kulit yang mengandung ekstrak *Centella asiatica* sebagai agen protektif terhadap kerusakan kulit akibat sinar UVB terutama dalam konteks paparan sub-akut.
2. Membantu dalam formulasi krim topikal yang efektif untuk perlindungan kulit dari kerusakan oksidatif.



1.5. Originalitas Penelitian

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian

Nama Peneliti	Judul Penelitian	Metode	Hasil Penelitian
Sulistiyana Putri V, et al	<i>Formulation Cream Ethanol Extract of (Centella asiatica (L.) Urban) Herb Concentration 6% And 10% with Cold Cream and Vanishing Cream Base and Antibacterial Activity against Staphylococcus aureus</i>	<i>In vitro</i>	Formulasi krim ekstrak <i>Centella asiatica</i> dengan konsentrasi 6% dan 10% menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> . Menjadi salah satu acuan dosis dalam penelitian kami
Yeny D. Rahmawati et al.	<i>Effects of Oral and Topical Application of Centella asiatica Extracts on UVB-Induced Photoaging of Hairless Rats</i>	<i>In vivo</i>	Ekspresi TGF- β 1 secara signifikan dipulihkan pada 5% dan 10% <i>Centella asiatica</i> ($p < 0,05$). Ekspresi MDA berkurang secara signifikan pada konsentrasi 10% ($p < 0,05$). Efeknya tergantung pada dosis. Menjadi salah satu acuan dosis dalam penelitian kami
Sabiti F, Perwitasari Y	Formulasi dan Evaluasi Fisik Sediaan Gel Daun Pegagan (<i>Centella asiatica</i>) sebagai Anti Jerawat	<i>In vitro</i>	Berhasil mengembangkan formulasi sediaan gel anti jerawat dari ekstrak <i>Centella asiatica</i> 5% yang stabil secara fisik. Menjadi salah satu acuan dosis dalam penelitian kami
Ratz-Lyko A, et al.	Moisturizing and Antiinflammatory Properties of Cosmetic Formulations Containing <i>Centella asiatica</i> Extract	<i>In vivo</i>	Formulasi kosmetik dengan ekstrak <i>C. asiatica</i> 5% menunjukkan efek pelembab (moisturizing) dan anti-inflamasi yang

Nama Peneliti	Judul Penelitian	Metode	Hasil Penelitian
			signifikan pada kulit manusia. Menjadi salah satu acuan dosis dalam penelitian kami
Lin P, et al.	<i>Centella asiatica</i> alleviates psoriasis through JAK/STAT3-mediated inflammation: An in vitro and in vivo study	in vitro dan in vivo	Ekstrak <i>Centella asiatica</i> terbukti dapat meredakan psoriasis dengan cara menghambat peradangan melalui jalur pensinyalan JAK/STAT3.
Kumari S, et al.	In vitro and in vivo antioxidant, anti-hyperlipidemic properties and chemical characterization of <i>Centella asiatica</i> (L.) extract	in vitro dan in vivo	Ekstrak <i>Centella asiatica</i> menunjukkan properti antioksidan dan anti-hiperlipidemia baik secara in vitro maupun in vivo.
P, Wahyu J, Sumarawati T	In vivo study of <i>Centella asiatica</i> leaf extract cream for Matrix Metalloproteinase-1 inhibition and collagen enhancement to prevent photoaging	In vivo	Krim ekstrak daun <i>Centella asiatica</i> terbukti menghambat enzim MMP-1 dan meningkatkan produksi kolagen untuk mencegah penuaan dini akibat paparan cahaya.

Penelitian-penelitian yang dirangkum dalam tabel di atas memberikan landasan ilmiah yang kuat sekaligus menyoroti celah pengetahuan yang hendak diisi oleh penelitian ini. Peran dan perbedaan dari masing-masing studi tersebut dapat diuraikan sebagai berikut:

Pertama, penelitian oleh Sulistiyana Putri V, et al. dan Sabiti F, et al. memainkan peran penting sebagai dasar justifikasi dosis yang digunakan dalam penelitian ini. Penelitian Sulistiyana Putri V, et al. berhasil memformulasikan dan menguji krim ekstrak *Centella asiatica* pada

konsentrasi 6% dan 10% ¹⁰, sementara penelitian Sabiti F, *et al.* berhasil mengembangkan sediaan gel yang stabil pada konsentrasi 5% ¹¹. Kedua studi ini membuktikan bahwa konsentrasi ekstrak dalam rentang 5% hingga 10% adalah dosis yang valid, stabil secara fisik, dan telah teruji dalam sediaan topikal. Membangun di atas dasar formulasi yang valid tersebut, justifikasi dosis diperkuat oleh bukti efektivitas biologis. Penelitian oleh Ratz-Lyko A, *et al.* memberikan justifikasi kuat untuk penggunaan dosis 5%, di mana formulasi dengan konsentrasi tersebut terbukti efektif memberikan efek anti-inflamasi pada kulit manusia ¹². Sementara itu, penelitian oleh Diah Rahmawati Y menjadi acuan utama yang paling relevan untuk dosis 10%, karena secara langsung telah menguji aplikasi topikal ekstrak 10% secara *in vivo* pada tikus yang dipapar UVB dan terbukti berhasil menurunkan kadar MDA, salah satu biomarker utama dalam penelitian ini ¹³. Dengan demikian, pemilihan dosis 5% dan 10% didukung oleh bukti stabilitas formulasi dan efektivitas biologis yang relevan.

Selanjutnya, penelitian oleh Lin P, *et al.* dan Kumari S, *et al.* mengukuhkan potensi biologis ekstrak *Centella asiatica* sebagai agen anti-inflamasi dan antioksidan yang poten baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Studi oleh Lin P, *et al.* secara spesifik menunjukkan kemampuan *Centella asiatica* dalam menekan peradangan melalui jalur JAK/STAT3 ¹⁴, sementara studi oleh Kumari S, *et al.* membuktikan aktivitas antioksidannya secara umum ¹⁵. Peran kedua penelitian ini adalah memberikan bukti

fundamental bahwa ekstrak *Centella asiatica* memang memiliki aktivitas biologis yang relevan untuk melawan stres oksidatif. Meskipun demikian, perbedaan utamanya terletak pada konteks patologis yang berbeda (psoriasis dan hiperlipidemia) dan mereka tidak secara spesifik mengukur biomarker kerusakan akibat paparan UVB seperti MDA dan 8-OHdG.

Penelitian yang dilakukan oleh P, Wahyu J, *et al.* merupakan penelitian yang paling mendekati topik ini, karena telah menguji krim ekstrak *Centella asiatica* secara *in vivo* untuk mencegah *photoaging*¹⁶. Peran penelitian ini adalah sebagai bukti awal bahwa ekstrak *Centella asiatica* memang efektif melawan kerusakan kulit akibat paparan cahaya. Namun, perbedaan fundamental terletak pada titik akhir (*endpoint*) yang diukur. Penelitian tersebut berfokus pada penanda restrukturisasi matriks ekstraseluler (inhibisi MMP-1 dan peningkatan kolagen) yang relevan dengan aspek struktural *photoaging*. Sebaliknya, penelitian ini akan menggali lebih dalam ke tingkat kerusakan seluler awal dengan mengukur peroksidasi lipid (MDA) dan kerusakan DNA oksidatif (8-OHdG), yang merupakan pemicu dari degradasi kolagen tersebut.

Dengan demikian, orisinalitas penelitian ini terletak pada kombinasi beberapa aspek baru. Pertama, penelitian ini secara spesifik mengukur penanda kerusakan oksidatif pada membran sel (MDA) dan DNA (8-OHdG) akibat paparan UVB secara *in vivo* menggunakan ekstrak utuh *Centella asiatica*. Kedua, dan yang paling utama, penelitian ini menggunakan desain komparatif yang baru dengan membandingkan efektivitas agen herbal yang

bekerja memodulasi stres (ekstrak *Centella asiatica*) dengan agen standar yang bekerja mendukung metabolisme energi seluler (*niacinamide*). Aspek perbandingan mekanistik ini belum pernah dilakukan sebelumnya dan akan memberikan wawasan baru mengenai strategi fotoproteksi yang lebih efektif.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Malondialdehida (MDA)

2.1.1. Definisi

Malondialdehida (MDA) adalah produk sampingan yang signifikan dari peroksidasi lipid, sebuah proses yang melibatkan degradasi oksidatif lipid. Proses ini sangat penting dalam memahami kerusakan sel karena memainkan peran penting dalam berbagai kondisi fisiologis dan patologis. MDA berfungsi sebagai biomarker untuk stres oksidatif yang dihasilkan dari peroksidasi lemak membran sel yang mengakibatkan kerusakan seluler.

Molekul MDA secara luas dikenal sebagai biomarker yang dapat diandalkan dalam menilai stres oksidatif pada berbagai penyakit, termasuk diabetes, kanker, dan gangguan neurodegeneratif. Ekspresinya mencerminkan tingkat peroksidasi lipid serta kerusakan oksidatif dalam sel^{9,10}. MDA dihasilkan melalui proses peroksidasi asam lemak tak jenuh ganda yang terdapat dalam membran sel. Untuk mendeteksinya, berbagai metode analitik dapat digunakan, seperti kromatografi cair kinerja tinggi, yang memainkan peran penting dalam evaluasi stres oksidatif di lingkungan klinis¹¹.

Interaksi MDA dengan komponen seluler dapat mengganggu integritas membran, yang menyebabkan perubahan fluiditas membran, permeabilitas, dan jalur pensinyalan. Gangguan ini

merupakan prekursor kematian sel dan terlibat dalam patogenesis berbagai penyakit, termasuk gangguan neurodegeneratif^{14,15}.

Molekul MDA, bersama dengan produk peroksidasi lipid lainnya, dapat memengaruhi *autophagy*, proses seluler yang bertanggung jawab untuk mendegradasi organel dan protein yang rusak. Dalam konteks kerusakan kulit yang relevan dengan penelitian ini, paparan radiasi UVB memicu produksi spesies oksigen reaktif (ROS) yang memulai peroksidasi lipid di membran sel, dengan MDA sebagai salah satu produk akhir utamanya. MDA ini berkontribusi langsung terhadap penuaan kulit (*photoaging*) dengan merusak struktur seluler dan protein, sehingga mempercepat proses penuaan¹⁷. Studi menunjukkan bahwa MDA dapat membentuk ikatan silang (*cross-linking*) dengan protein struktural kulit seperti kolagen dan elastin, yang berkontribusi pada penurunan elastisitas kulit. Selain itu, MDA dapat merangsang produksi sitokin pro-inflamasi (seperti $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, dan IL-6) yang menyebabkan peradangan kronis pada jaringan kulit yang terpapar UVB. MDA juga dapat membentuk aduk dengan DNA (*DNA adducts*), sebuah kerusakan yang berpotensi menyebabkan mutasi genetik dan meningkatkan risiko karsinogenesis kulit^{17,18}.

Meskipun MDA merupakan penanda utama stres oksidatif dan kerusakan sel, penting untuk melihatnya dalam konteks peroksidasi lipid secara keseluruhan serta pengaruh sistem antioksidan endogen

dalam mengaturnya. Sistem ini dapat membantu mengurangi dampak negatif MDA dan aldehida reaktif lainnya, membuka peluang untuk intervensi terapeutik yang menargetkan jalur stres oksidatif. Selain itu, perbedaan kadar MDA dalam berbagai penyakit dan kondisi menunjukkan adanya interaksi kompleks antara stres oksidatif dan respons seluler, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut untuk memahami mekanisme ini secara mendalam.

2.1.2. Peran MDA pada *photoaging* akibat UVB

MDA berkontribusi terhadap penuaan kulit melalui berbagai mekanisme biologis, termasuk kerusakan oksidatif, peradangan, dan degradasi matriks ekstraseluler.

1. Peningkatan Peroksidasi Lipid dan Stres Oksidatif

Paparan UVB menyebabkan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) yang memicu peroksidasi lipid pada membran sel. Salah satu produk akhirnya adalah MDA, yang dapat merusak struktur seluler dan protein, mempercepat proses penuaan kulit ¹⁶.

2. Degradasi Kolagen dan Elastin

Molekul MDA dapat membentuk ikatan silang (cross-linking) dengan protein struktural kulit seperti kolagen dan elastin, yang mengurangi elastisitas dan kelembapan kulit. Studi menunjukkan bahwa kadar MDA yang meningkat berkorelasi dengan penurunan sintesis kolagen akibat peningkatan matrix metalloproteinase (MMPs) yang dipicu oleh stres oksidatif ¹⁷

3. Induksi Peradangan Kronis

Molekul MDA dapat merangsang produksi sitokin pro-inflamasi seperti $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, dan IL-6 , yang berkontribusi terhadap peradangan kronis dan kerusakan jaringan pada kulit yang terpapar UVB¹⁸. Peradangan berkelanjutan mempercepat kerusakan sel dan penuaan kulit.

4. Mutasi DNA dan Risiko Karsinogenesis

Selain merusak protein, MDA dapat membentuk aduk dengan DNA (DNA adducts), yang berpotensi menyebabkan mutasi genetik dan meningkatkan risiko kanker kulit akibat UVB⁵.

5. Gangguan Mekanisme Antioksidan

Molekul MDA juga dapat menghambat enzim antioksidan endogen, seperti superoxide dismutase (SOD) dan glutathione peroxidase (GPx), sehingga memperburuk akumulasi stres oksidatif dalam sel kulit¹⁹.

2.2. 8-Hidroksi-2-Deoksiguanosin (8-OHdG)

2.2.1. Definisi

Kadar 8-hidroksi-2-deoksiguanosin (8-OHdG) dalam sel merupakan marker penting untuk menilai kerusakan DNA oksidatif, yang berkorelasi dengan kapasitas perbaikan DNA dan ketidakstabilan genomik. 8-OHdG dibentuk oleh oksidasi guanin dan banyak digunakan sebagai biomarker untuk stres oksidatif dan

kerusakan DNA dengan kata lain *Reactive Oxygen Species* (ROS), terutama radikal hidroksil (-OH) yang sangat reaktif, menyerang molekul DNA. Secara mekanistik, serangan radikal ini terjadi pada posisi karbon ke-8 dari basa guanine (deoxyguanosine). Reaksi hidroksilasi ini mengubah guanine menjadi 8-OHdG. Timbulnya 8-OHdG ini kemudian dilepaskan dari DNA selama proses perbaikan DNA (DNA repair) dan diekskresikan ke dalam aliran darah. Oleh karena itu, peningkatan kadar 8-OHdG di jaringan atau serum secara langsung mencerminkan tingkat kerusakan DNA oksidatif yang sedang berlangsung. kadarnya dapat memberikan wawasan tentang efisiensi mekanisme perbaikan DNA dan stabilitas genom. Hubungan ini kompleks dan dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk polimorfisme genetik, keadaan penyakit, dan paparan lingkungan.

Perbaikan 8-oxo-7,8-dihydroguanine (8-oxoG), lesi yang mirip dengan 8-OHdG, terutama dimediasi oleh DNA glikosilase seperti OGG1 dan MUTYH. Varian dalam gen ini dapat memengaruhi kapasitas perbaikan. Misalnya, polimorfisme OGG1- S326C menghasilkan berkurangnya aktivitas perbaikan, yang menyebabkan peningkatan ketidakstabilan genom dan akumulasi lesi oksidatif²⁰. Ini menunjukkan bahwa individu dengan latar belakang genetik tertentu mungkin memiliki mekanisme perbaikan yang terganggu, menghasilkan tingkat 8- OHdG yang lebih tinggi.

Efisiensi *Base Excision Repair*, yang melibatkan OGG1 dan MUTYH, sangat penting untuk mempertahankan tingkat 8-OHdG yang rendah. Studi telah menunjukkan bahwa polimorfisme pada gen ini dapat menyebabkan konsentrasi 8-OHdG yang lebih tinggi, menunjukkan kapasitas perbaikan yang terganggu ²¹. Hal ini terutama terlihat pada kondisi seperti karsinoma ovarium serosa tingkat tinggi, di mana kadar 8-OHdG yang tinggi berkorelasi dengan prognosis yang buruk dan resistensi pengobatan.

Peningkatan kadar 8-OHdG berkorelasi dengan meningkatnya ketidakstabilan genomik, yang merupakan karakteristik utama kanker. Dalam kasus kanker kolorektal, rendahnya ekspresi 8-OHdG dikaitkan dengan prognosis kelangsungan hidup yang lebih buruk, mengindikasikan bahwa kadar yang lebih tinggi mungkin mencerminkan mekanisme perbaikan DNA yang lebih aktif atau respons terhadap peningkatan stres oksidatif ²². Hal serupa juga ditemukan pada karsinoma paru-paru sel non-kecil, di mana kadar 8-OHdG meningkat akibat paparan radiasi, menandakan adanya kerusakan DNA serta potensi ketidakstabilan genomik ²³. Menariknya, 8-oxoG, lesi oksidatif terkait, dapat memodulasi transkripsi gen secara independen dari perbaikannya, bertindak sebagai sensor stres. Ini menunjukkan bahwa kerusakan DNA oksidatif mungkin memiliki implikasi yang lebih luas untuk stabilitas genom dan respons stres seluler di luar mutagenesis

langsung²⁴.

Sementara kadar 8-OHdG yang tinggi sering kali mengindikasikan stres oksidatif dan potensi ketidakstabilan genomik, mereka juga dapat mencerminkan proses perbaikan DNA yang aktif. Dalam beberapa konteks, seperti gangguan bipolar, peningkatan kadar 8-OHdG dikaitkan dengan keadaan suasana hati tertentu, menunjukkan interaksi yang kompleks antara stres oksidatif, perbaikan DNA, dan fungsi seluler²⁵. Selain itu, faktor gaya hidup, kondisi metabolisme seperti diabetes, dan penuaan dapat memengaruhi kadar 8-OHdG, semakin memperumit hubungan antara biomarker ini, kapasitas perbaikan DNA, dan stabilitas genom^{26,27}. Kesimpulannya, tingkat 8-OHdG dalam sel berfungsi sebagai indikator berharga dari kerusakan DNA oksidatif dan kapasitas perbaikan, dengan implikasi yang signifikan untuk stabilitas genomik. Namun, interpretasinya membutuhkan pertimbangan yang cermat terhadap faktor genetik, lingkungan, dan patologis yang dapat memodulasi tingkat dan dampaknya.

2.2.2. Peran 8-OHdG pada *photoaging* akibat UVB

Tingginya kadar 8-OHdG dalam sel menunjukkan adanya kerusakan DNA oksidatif, yang dapat mengganggu fungsi sel kulit, mempercepat penuaan, dan meningkatkan risiko karsinogenesis kulit.

1. Kerusakan DNA akibat UVB

Paparan UVB meningkatkan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) yang menyebabkan kerusakan oksidatif pada basa guanin dalam DNA, menghasilkan 8-OHdG sebagai produk utamanya²⁸. Akumulasi 8-OHdG dalam sel kulit menandakan kerusakan DNA yang tidak diperbaiki dengan baik, berkontribusi terhadap penuaan sel (senescence) dan kematian seluler.

2. Induksi Penuaan Kulit (*Photoaging*)

Photoaging akibat UVB dikaitkan dengan kerusakan DNA dan stres oksidatif, yang memicu peningkatan ekspresi protein p53 dan p21—dua faktor utama dalam mekanisme penuaan sel²⁹. Ketika DNA rusak, sel kulit kehilangan kemampuan regenerasi, menyebabkan kulit kendur, munculnya kerutan dan hiperpigmentasi.

3. Stimulasi Respons Inflamasi

Kerusakan DNA yang ditandai dengan meningkatnya 8-OHdG dapat mengaktifkan jalur inflamasi, termasuk NF- κ B dan IL-6, yang mempercepat proses penuaan kulit akibat peradangan kronis³⁰.

4. Gangguan Fungsi Mekanisme Perbaikan DNA

Sel kulit memiliki sistem perbaikan DNA, seperti base excision repair (BER), untuk mengatasi kerusakan akibat UVB. Namun, peningkatan 8-OHdG menunjukkan bahwa kapasitas

perbaikan DNA mungkin terganggu, menyebabkan akumulasi mutasi dan mempercepat degenerasi sel kulit ³¹.

5. Potensi Risiko Karsinogenesis Kulit

Studi menunjukkan bahwa tingginya kadar 8-OHdG akibat paparan UVB dapat meningkatkan risiko transformasi seluler menjadi kanker, terutama karsinoma sel skuamosa dan melanoma ³². Hal ini menunjukkan bahwa *photoaging* bukan hanya masalah estetika tetapi juga faktor risiko kesehatan kulit jangka panjang.

2.3. Radiasi Ultraviolet B (UVB)

2.3.1. Definisi dan karakteristik radiasi UVB

Radiasi ultraviolet B (UVB) merupakan segmen signifikan dari spektrum ultraviolet, memberikan pengaruh biologis yang mendalam pada jaringan kulit manusia. Radiasi ini sebagian besar diserap oleh lapisan epidermis dan dikenal karena keterlibatannya dalam fenomena yang menguntungkan dan merugikan, termasuk biosintesis vitamin D dan inisiasi karsinogenesis kulit. Radiasi UVB mencakup banyak jalur seluler dan molekuler.

Radiasi UVB memiliki spektrum panjang gelombang mulai dari 280 hingga 320 nm dan terutama diserap oleh lapisan ozon bumi, dengan hanya proporsi minimal yang menembus ke permukaan planet. Radiasi ini juga diserap pada lapisan kulit terluar, yaitu epidermis ³³. UVB diklasifikasikan sebagai radiasi non-pengion, menunjukkan bahwa ia tidak memiliki energi yang cukup

untuk mengionisasi struktur atom atau entitas molekul; Namun demikian, ia masih dapat memicu dampak biologis yang cukup besar, seperti kerusakan asam deoksiribonukleat (DNA) dan stres oksidatif³³.

Radiasi UVB memicu pembebasan partikel mikrovesikel (MVP) dari keratinosit, yang dapat memediasi respons imunologis lokal dan sistemik. MVPs ini mampu mengangkut molekul bioaktif, seperti faktor pengaktif trombosit (PAF), sehingga berkontribusi pada imunosupresi sistemik dan berpotensi memfasilitasi proliferasi Tumor³⁶. UVB berfungsi sebagai katalis apoptosis yang kuat, memicu kematian sel melalui produksi spesies oksigen reaktif (ROS). Stres oksidatif ini mencapai puncaknya dalam bentuk kerusakan DNA dan apoptosis pada berbagai jenis sel, termasuk sel normal maupun neoplastik³⁴. Paparan UVB meningkatkan sintesis sitokin, termasuk tumor nekrosis faktor-alpha (TNF-alpha) dan lipid bioaktif seperti PAF, yang memainkan peran penting dalam respons inflamasi dan imunosupresif³⁵.

Pelepasan MVP sebagai respons terhadap UVB merupakan mekanisme baru yang memfasilitasi pengaruh sistemik agen bioaktif di luar batas-batas epidermis. Jalur ini mungkin dapat menerima intervensi farmakologis yang bertujuan memodulasi efek yang diinduksi oleh UVB, menghadirkan jalan terapeutik prospektif untuk gangguan yang terkait dengan paparan UVB³⁶.

Meskipun UVB berperan penting dalam sintesis vitamin D, kemampuannya untuk menyebabkan kerusakan kulit dan berkontribusi pada proses karsinogenesis menekankan perlunya tindakan perlindungan serta penelitian lebih lanjut mengenai strategi untuk meminimalkan dampak negatifnya. Pemahaman yang lebih mendalam tentang mekanisme yang mengatur respons tubuh terhadap UVB dapat membuka peluang untuk mengembangkan metode pencegahan dan pengobatan yang lebih efektif terhadap penyakit kulit terkait.

2.3.2. Efek paparan UVB pada kulit.

Paparan radiasi ultraviolet B (UVB) memanifestasikan konsekuensi yang signifikan, baik secara temporal langsung maupun permanen, pada sistem integumen manusia, mempengaruhi integritas arsitektur dan peran fisiologisnya. Dalam konteks langsung, paparan UVB terutama menimbulkan cedera genom dan respons inflamasi, sedangkan paparan yang berkepanjangan dikaitkan dengan penuaan kulit dan transformasi neoplastik. Memahami konsekuensi ini sangat penting untuk perumusan metodologi protektif dan intervensi terapeutik.

Radiasi UVB diserap oleh DNA yang ada dalam keratinosit epidermal, menghasilkan pembentukan dimer siklobutena pirimidin (CPD), yang memiliki sifat mutagenik dan dapat memicu karsinogenesis kulit jika tidak diperbaiki secara memadai ⁸⁰.

Selanjutnya, paparan UVB mendorong sekresi partikel mikrovesikel (MVP) dari keratinosit, yang dapat memfasilitasi imunosupresi sistemik dan meningkatkan proliferasi tumor ³⁷. Paparan UVB mampu menginduksi eritema, yang ditandai dengan kemerahan kulit, ketidaknyamanan, dan pembentukan lepuh. Fenomena ini merupakan konsekuensi dari respons inflamasi yang ditimbulkan oleh cedera genom yang dimediasi UVB dan pembebasan mediator inflamasi berikutnya ³⁸. Viabilitas Seluler dan Paparan UVB mengurangi viabilitas entitas seluler non-ganas dan ganas, dengan dampak sitotoksik yang jelas dapat diamati 24 jam setelah paparan. Perubahan morfologi seluler dan integritas struktural juga didokumentasikan, menunjukkan stres seluler dan efek merugikan ³⁹.

Paparan terhadap radiasi UVB merupakan faktor risiko yang signifikan untuk perkembangan keganasan kulit, termasuk jenis melanoma dan non-melanoma. Akumulasi CPD dan bentuk lesi genom lainnya, dengan tidak adanya mekanisme reparatif yang memadai, dapat berpuncak pada mutagenesis dan onkogenesis ⁴⁰.

Paparan UVB yang berkepanjangan berkontribusi pada *photoaging*, digambarkan oleh tekstur kulit kasar, kerutan yang jelas, dan elastisitas kulit berkurang. Fenomena ini disebabkan oleh reorganisasi matriks ekstraseluler dermal yang diinduksi UVB, terutama mempengaruhi jaringan serat elastis ⁴². Paparan UVB memberikan efek modulasi pada sistem kekebalan tubuh, berpotensi

menimbulkan hasil yang merugikan dan menguntungkan. Meskipun dapat menekan respons imun lokal, sehingga memfasilitasi perkembangan tumor, secara bersamaan memainkan peran penting dalam sintesis vitamin D, yang dikaitkan dengan berbagai efek peningkatan kesehatan ⁴⁰.

Penerapan tabir surya yang memiliki peringkat *Sun Protection Factor* atau *SPF* yang memadai sangat penting dalam melindungi terhadap cedera kulit yang diinduksi UVB. Namun demikian, sebagian besar individu gagal memberikan prioritas pada manfaat perlindungan yang diberikan oleh filter *SPF*, yang berpuncak pada peningkatan risiko cedera kulit dan *photoaging* ⁴³. Pemahaman yang lebih mendalam tentang mekanisme dasar kerusakan akibat UVB telah mendorong penelitian terhadap agen farmakologis yang menargetkan jalur tersebut, menawarkan strategi terapeutik potensial untuk gangguan yang berkaitan dengan paparan UVB ³⁷.

Dampak negatif dari paparan UVB telah banyak diteliti, maka dari itu penting untuk memahami keseimbangan antara paparan UVB dan manfaatnya, seperti produksi vitamin D. Menjaga keseimbangan ini sangat penting untuk kesehatan secara menyeluruh, sehingga langkah perlindungan harus disesuaikan dengan kebutuhan individu dan kondisi lingkungan. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengungkap interaksi kompleks antara radiasi UVB dan kesehatan kulit, serta mengembangkan strategi pencegahan dan pengobatan

yang efektif.

2.4. Stres Oksidatif pada Kulit karena Paparan UVB

2.4.1. Pembentukan Radikal Bebas

Paparan radiasi UVB merupakan faktor penting dalam pembentukan radikal bebas di kulit, yang menyebabkan stres oksidatif. Proses ini melibatkan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) dan radikal bebas lainnya, yang dapat menyebabkan kerusakan sel, peradangan, dan berkontribusi pada penuaan kulit dan kanker. Bagian berikut mengeksplorasi mekanisme dan implikasi pembentukan radikal bebas akibat paparan UVB, serta strategi perlindungan potensial.

Radiasi UVB terutama menginduksi pembentukan ROS, termasuk anion superoksida, hidrogen peroksida, dan radikal hidroksil. Spesies ini dihasilkan melalui reaksi fotokimia di kulit, melampaui kapasitas pertahanan antioksidan dan memicu stres oksidatif^{43,44}. Paparan UVB memicu peroksidasi lipid, yaitu proses di mana ROS menyerang lipid dalam membran sel, mengakibatkan kerusakan sel dan peradangan. Mekanisme ini menjadi jalur utama manifestasi stres oksidatif yang disebabkan oleh UVB di kulit⁴⁴. Pada dosis UVB yang lebih tinggi, ada pergeseran dari ROS ke spesies oksigen lipid (LOS), yang menunjukkan transisi dari stres oksidatif yang dapat dikelola ke tingkat berbahaya yang tidak lagi dapat dikompensasi oleh sistem redoks kulit^{45,46}.

Ketidakseimbangan antara radikal bebas dan sistem anti-oksidan Paparan ultraviolet B (UVB) menyebabkan ketidakseimbangan antara radikal bebas dan sistem anti-oksidan, terutama melalui generasi spesies oksigen reaktif (ROS) dan spesies nitrogen reaktif (RNS). Ketidakseimbangan ini mengakibatkan stres oksidatif, yang dapat menyebabkan kerusakan sel yang signifikan, termasuk peroksidasi lipid, fragmentasi DNA, dan apoptosis. Mekanisme molekuler yang mendasari ketidakseimbangan ini melibatkan berbagai jalur dan komponen seluler, yang dipengaruhi oleh perubahan aktivitas enzim yang diinduksi UVB, jalur pensinyalan, dan pertahanan anti-oksidan.

Radiasi UVB memicu produksi ROS, termasuk anion superoksida, hidrogen peroksida, dan radikal hidroksil, melalui reaksi fotokimia langsung serta mekanisme fotosensitisasi. Akumulasi ROS ini dapat melampaui kapasitas pertahanan antioksidan kulit, sehingga memicu stres oksidatif^{47,43}. Spesies nitrogen reaktif, terutama oksida nitrat (NO) dan peroksinitrit (ONOO-), juga dihasilkan setelah paparan UVB. Ketidakseimbangan antara NO dan ONOO- berkontribusi pada stres nitroksidatif, yang memperburuk kerusakan sel dan apoptosis^{44,48}.

Paparan UVB memengaruhi enzim anti-oksidan utama, seperti katalase dan glutathione peroksidase, mengurangi aktivitasnya dan dengan demikian mengganggu kemampuan kulit untuk menetralkan

ROS^{47,44}. Faktor transkripsi Nrf2, yang mengatur ekspresi gen anti-oksidan, diturunkan oleh UVB, yang selanjutnya mengurangi respons anti- oksidan. Namun, intervensi tertentu, seperti penerapan resolvin D1 yang dipicu aspirin, dapat meningkatkan regulasi Nrf2 dan mengembalikan kapasitas anti-oksidan⁴⁹.

Stres oksidatif yang disebabkan oleh UVB menyebabkan peroksidasi lipid, oksidasi protein, dan kerusakan DNA, yang dapat memicu apoptosis atau nekrosis pada sel kulit. Kerusakan ini dimediasi oleh ROS dan RNS, dengan efek langsung terutama karena ROS dan efek selanjutnya yang melibatkan RNS^{44,48}. Stres oksidatif yang diinduksi UVB juga memengaruhi ekspresi mikroRNA (miRNA) yang mengatur jalur pensinyalan sensitif redoks, berkontribusi pada perkembangan kanker kulit, terutama melanoma⁸¹. Jenis sel kulit yang berbeda, seperti keratinosit dan fibroblas, menunjukkan kerentanan yang bervariasi terhadap stres oksidatif yang diinduksi UVB. Fibroblas lebih rentan terhadap pembentukan ROS dan aktivasi faktor transkripsi, sedangkan keratinosit lebih sensitif terhadap perubahan kadar elektrofili⁵⁰.

Perbedaan terkait usia dalam pertahanan anti-oksidan juga mempengaruhi respons terhadap UVB, dengan fibroblas dewasa menunjukkan tingkat peroksidasi lipid basal yang lebih tinggi dibandingkan dengan individu yang lebih muda⁵¹. Antioksidan, seperti asam askorbat, dapat membantu mengurangi stres oksidatif

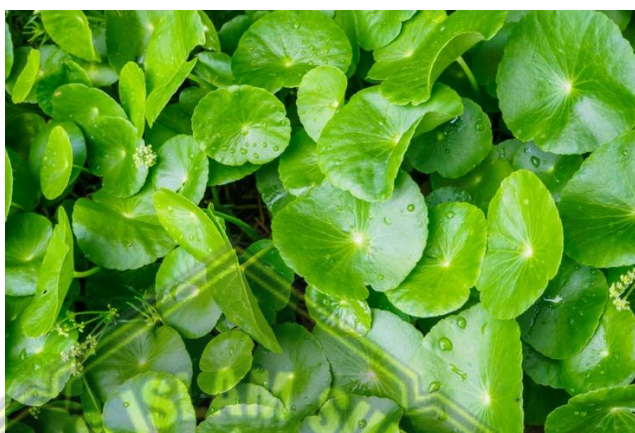
yang dipicu oleh paparan UVB melalui penurunan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) dan menjaga kapasitas pertahanan antioksidan dalam sel. Namun, efektivitasnya terbatas, karena tidak dapat sepenuhnya melindungi sel dari berbagai jenis kerusakan yang terjadi akibat paparan tersebut. Hal ini menekankan pentingnya mengembangkan pendekatan perlindungan yang lebih holistik dan menyeluruh⁵⁰.

Penggunaan anti-oksidan eksogen, baik secara oral maupun topikal, bersama dengan penghindaran matahari dan aplikasi tabir surya, merupakan strategi yang direkomendasikan untuk mengurangi stres oksidatif yang diinduksi UVB dan risiko terkaitnya⁴³. Sementara fokus utamanya adalah pada efek merugikan dari stres oksidatif yang diinduksi UVB, penting untuk dicatat bahwa beberapa tingkat pembangkitan ROS diperlukan untuk fungsi fisiologis normal, seperti pensinyalan sel dan respons imun.

Tantangannya terletak pada menjaga keseimbangan di mana kadar ROS cukup untuk fungsi-fungsi ini tanpa mengalami stres oksidatif yang berbahaya. Memahami mekanisme molekuler dari keseimbangan ini dapat menginformasikan pengembangan intervensi yang ditargetkan untuk melindungi dari kerusakan yang disebabkan oleh UVB.

2.5. *Centella asiatica*

2.5.1. Deskripsi tanaman *Centella asiatica*



Gambar 2.1. Tanaman Pegagan (*Centella asiatica*)

Centella asiatica yang juga dikenal dengan pegagan adalah salah satu jenis tanaman herbal dengan kombinasi fitur morfologi dan anatomi yang beragam. *Centella asiatica* dicirikan oleh daunnya yang khas, yaitu reniform (berbentuk ginjal) dengan tepi crenate (berkerang). Daunnya biasanya berwarna hijau, tetapi variasi warna dapat terjadi karena keragaman genetik dalam spesies. Tangkai daun, atau tangkai daun, panjang dan ramping, berkontribusi pada kebiasaan pertumbuhan tanaman yang merayap^{52,53}.

Tanaman ini menunjukkan pertumbuhan stoloniferous, artinya menyebar melalui batang horizontal yang berakar di simpul. Stonon seringkali berwarna coklat kemerahan, dan tangkai daun dapat bervariasi dalam warna, yang merupakan fitur utama yang digunakan dalam analisis fenetik untuk membedakan aksesori *Centella asiatica*⁵².

Kultivar *Centella asiatica* yang ditingkatkan cenderung memiliki daun yang lebih besar dan tekstur yang lebih keras dibandingkan dengan varietas asli. Ini adalah hasil dari pemuliaan selektif yang bertujuan untuk meningkatkan sifat-sifat tertentu yang diinginkan untuk penggunaan obat dan komersial ⁵⁴.

Bagian daun dan batang, digunakan secara luas dalam pengobatan tradisional karena kandungan senyawa bioaktifnya ⁵⁵. Penelitian telah menunjukkan variabilitas genetik yang signifikan dalam populasi *Centella asiatica*, yang tidak selalu terkait dengan distribusi geografis. Keanekaragaman genetik ini tercermin dalam variasi morfologis seperti ukuran daun, panjang tangkai daun, dan warna stolon ^{52,53}. Tanaman ini kaya akan triterpene saponosides, termasuk asam asiatik dan asam madecassic, yang bertanggung jawab atas aktivitas farmakologisnya. Senyawa ini ditemukan dalam konsentrasi yang lebih tinggi pada spesies yang ditingkatkan, meningkatkan potensi terapeutiknya ^{54,55}.

2.5.2. Kandungan Senyawa Bioaktif *Centella asiatica*

Centella asiatica, umumnya dikenal sebagai pegagan, adalah ramuan herbal yang terkenal dengan sifat terapeutiknya yang beragam, sebagian besar dikaitkan dengan komposisi kimianya yang kaya. Tanaman ini mengandung berbagai senyawa bioaktif, terutama triterpenoid, yang berkontribusi pada khasiat obatnya. Respons ini mengeksplorasi komposisi kimia *Centella asiatica* dan menjelaskan

bagaimana senyawa bioaktifnya mendukung khasiat obatnya.

Senyawa bioaktif utama dalam *Centella asiatica* adalah triterpenoid, termasuk asam asiatik, asam madecassic, asiaticoside, dan madecassoside. Senyawa ini sangat penting dalam aktivitas farmakologis tanaman, seperti penyembuhan luka dan efek anti-inflamasi^{56,57,55}. Di samping triterpenoid, saponin adalah konstituen penting yang berkontribusi pada potensi terapeutik tanaman, terutama dalam meningkatkan memori dan mengobati gangguan kulit^{58,59}. Senyawa ini berlimpah di *Centella asiatica* dan dikenal karena sifat anti- oksidannya, yang membantu mengurangi stres oksidatif dan melindungi dari kerusakan sel^{56,60}.

Asam Asiatik dan madecassoside sangat penting dalam mempromosikan proliferasi fibroblas dan sintesis kolagen, yang penting untuk penyembuhan luka. Senyawa ini meningkatkan regenerasi dan perbaikan jaringan, membuat *Centella asiatica* efektif dalam mengobati lesi kulit dan luka kronis^{57,61}. Kandungan fenolik dan flavonoid dalam *Centella asiatica* berkontribusi pada kapasitas anti-oksidannya yang kuat, yang membantu menetralkan radikal bebas dan melindungi sel dari kerusakan oksidatif. Kegiatan ini sangat penting dalam mencegah penyakit kronis dan kondisi terkait penuaan^{56,60}.

Triterpenoid di *Centella asiatica* menunjukkan sifat anti-inflamasi yang signifikan, yang bermanfaat dalam mengobati

kondisi seperti radang sendi dan penyakit neurodegeneratif. Efek neuroprotektif tanaman juga terkait dengan kemampuannya untuk meningkatkan fungsi kognitif dan mengurangi kecemasan ^{55,58}. *Centella asiatica* telah menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap berbagai patogen, dan senyawanya telah menunjukkan potensi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker, menjadikannya kandidat untuk terapi kanker komplementer ^{55,62,82}.

Studi yang membandingkan metode budidaya organik dan konvensional telah menunjukkan bahwa praktik organik tidak membahayakan akumulasi senyawa bioaktif di *Centella asiatica*. Temuan ini mendukung praktik pertanian berkelanjutan sambil mempertahankan kualitas obat tanaman ⁶³. Perawatan ultrasound pasca panen telah terbukti meningkatkan akumulasi senyawa bioaktif di *Centella asiatica*, sehingga meningkatkan aktivitas anti-oksidan dan pelindungnya. Metode ini menawarkan pendekatan praktis untuk meningkatkan potensi terapeutik tanaman ⁶⁰.

Sementara *Centella asiatica* dikenal karena khasiatnya, penting untuk mempertimbangkan tantangan yang terkait dengan ketersediaan hayati dan stabilitasnya. Penelitian tentang sistem pengiriman baru, seperti nanopartikel dan liposom, sedang berlangsung untuk meningkatkan kemanjuran senyawa bioaktifnya dalam aplikasi klinis ⁵⁸. Selain itu, studi *in vivo* dan *in vitro* lebih lanjut diperlukan untuk sepenuhnya memahami mekanisme aksi dan

mengoptimalkan penggunaan terapeutik *Centella asiatica* dalam pengobatan modern.

Tabel 2.1. Profil Fitokimiawi ekstrak *Centella asiatica*

Konstituen	Jumlah (mg/g)	Persentase (%)
Triterpenoid		
Madecassoside (MS)	30,23	45,13961
Asiaticoside (AS)	20,40	30,4614
Madecassic acid (MA)	2,03	3,031208
Asiatic acid (AA)	1,87	2,792295
Senyawa Fenolik		
5-CQA	1,81	2,702703
4-CQA	1,28	1,911304
3-CQA	2,74	4,091384
1,3-DiCQA	0,55	0,821263
3,4-DiCQA	0,83	1,239361
3,5-DiCQA	0,87	1,299089
1,5-DiCQA	0,94	1,403614
4,5-DiCQA	0,97	1,44841
Flavonoid		
Quercetin	0,48	0,716739
Kaempferol	0,35	0,522622
Rutin	0,29	0,43303
Minyak esensial		
β -pinene	0,32	0,477826
γ -terpinene	0,08	0,119456
Poliasetilen		
Cadynene	0,11	0,164253
Centalin	0,09	0,134389
Senyawa lain		
Brahmic acid	0,25	0,373301
Brahmoside	0,18	0,268777
Brahminoside	0,16	0,238913
Centelloside	0,14	0,209049

2.6. Potensi Anti-oksidan Ekstrak *Centella asiatica*

Mekanisme perlindungan *Centella asiatica* terhadap stres oksidatif *Centella asiatica*, ramuan obat, terkenal dengan sifat anti-oksidannya yang kuat, yang memainkan peran penting dalam mengurangi stres oksidatif. Efek perlindungan ini terutama dikaitkan dengan komposisi

senyawa bioaktif yang kaya, terutama triterpen dan senyawa fenolik, yang menunjukkan aktivitas anti-oksidan yang signifikan. Bagian berikut menyelidiki mekanisme dan efek aktivitas anti-oksidan *Centella asiatica*, menyoroti aplikasi terapeutik potensialnya.

Triterpen utama seperti asam asiatik, asiaticoside, asam madecassic, dan madecassoside telah terbukti secara signifikan mengurangi kadar ROS pada berbagai jenis sel, termasuk fibroblas kulit dan hepatosit. Asam Asiatik, khususnya, menunjukkan kemanjuran tertinggi dalam mengurangi kadar ROS dan malondialdehid (MDA) yang diinduksi UVB, sekaligus mempertahankan kadar glutathione (GSH), sehingga meningkatkan viabilitas sel dan produksi kolagen⁶⁴. Studi *in silico* telah mengungkapkan bahwa senyawa seperti asiaticoside dan asam madecassic berinteraksi secara efektif dengan enzim anti-oksidan seperti superoksida dismutase (SOD) dan glutathione peroxidase (GPx), meningkatkan aktivitasnya. Interaksi ini membantu mengubah anion superoksida berbahaya menjadi senyawa yang lebih stabil, sehingga mengurangi stres oksidatif⁶⁵.

Sifat anti-oksidan *Centella asiatica* berkontribusi pada perlindungan saraf dengan mengurangi marker stres oksidatif seperti MDA dan meningkatkan aktivitas enzim anti-oksidan di otak. Hal ini telah dikaitkan dengan peningkatan fungsi kognitif dan memori pada model hewan, menunjukkan manfaat potensial dalam penurunan kognitif terkait usia^{66,67}.

Ekstrak etanol *Centella asiatica* telah terbukti melindungi sel seperti neural dari stres oksidatif yang diinduksi hidrogen peroksida dengan

menurunkan kadar ROS dan meningkatkan regulasi gen anti-oksidan. Hal ini menunjukkan potensinya dalam mencegah penyakit neurodegeneratif seperti Alzheimer⁶⁷.

Aktivitas anti-oksidan *Centella asiatica* dapat bervariasi tergantung pada metode pengeringan yang digunakan. Sampel yang dikeringkan dengan oven menunjukkan aktivitas anti-oksidan tertinggi, kemungkinan karena konsentrasi asiaticoside dan madecassoside yang lebih tinggi, dibandingkan dengan sampel yang dikeringkan dengan sinar matahari dan dikeringkan dengan udara⁶⁸. Fraksi ekstrak *Centella asiatica* yang berbeda, seperti fraksi etil asetat dan butanol, telah menunjukkan aktivitas anti-oksidan yang signifikan. Fraksi ini kaya akan senyawa fenolik, yang berkontribusi pada kemampuannya untuk menghambat oksidasi LDL dan melindungi jaringan hati dari peroksidasi⁵⁶. Meskipun aktivitas anti-oksidan *Centella asiatica* didokumentasikan dengan baik, kemanjurannya dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti metode ekstraksi dan senyawa bioaktif spesifik yang ada. Selain itu, potensinya sebagai agen terapeutik melampaui aktivitas anti-oksidan, yang mencakup efek anti-inflamasi dan neuroregeneratif. Namun, studi *in vivo* lebih lanjut diperlukan untuk sepenuhnya memahami mekanismenya dan mengoptimalkan penggunaannya dalam pengaturan klinis^{56,69}.

Pengaruh *Centella asiatica* pada parameter stres oksidatif kulit *Centella asiatica*, ramuan obat tradisional, terkenal dengan sifat anti-oksidannya, terutama dalam mengurangi marker stres oksidatif seperti

malondialdehida (MDA) dan 8-hidroksi-2'- deoksiguanosin (8- OHdG). Mekanisme molekuler yang mendasarinya melibatkan berbagai senyawa bioaktif, terutama triterpene, yang memodulasi stres oksidatif melalui berbagai jalur. Respons ini akan mengeksplorasi mekanisme ini, dengan fokus pada peran senyawa spesifik dan interaksinya dengan sistem anti-oksidan seluler.

Asam Asiatik, asiaticoside, asam madecassic, dan madecassoside adalah triterpen utama di *Centella asiatica* yang berkontribusi pada efek anti-oksidannya. Asam Asiatik, khususnya, telah terbukti secara signifikan mengurangi kadar MDA dan meningkatkan viabilitas sel dalam kondisi stres oksidatif⁶⁴. Triterpen ini memberikan efeknya dengan melemahkan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) dan meningkatkan aktivitas enzim anti-oksidan seperti superoksida dismutase (SOD) dan glutathione peroxidase (GPx). Studi *in silico* telah menunjukkan bahwa asiaticoside dan asam madecassic mengikat secara efektif pada enzim ini, menunjukkan peran langsung dalam meningkatkan aktivitasnya⁶⁵.

Senyawa *Centella asiatica* telah terbukti berinteraksi dengan dan meningkatkan aktivitas enzim anti-oksidan utama. Misalnya, asiaticoside dan asam madecassic menunjukkan afinitas pengikatan yang signifikan dengan SOD dan GPx, yang sangat penting untuk mengurangi kerusakan oksidatif dengan mengubah radikal superoksida menjadi molekul yang kurang berbahaya⁶⁵. Pengobatan dengan ekstrak *Centella asiatica* telah dikaitkan dengan peningkatan ekspresi gen anti-oksidan, termasuk yang

diatur oleh faktor nuklir (2 yang diturunkan dari eritroid 2) seperti 2 (Nrf2), yang memainkan peran penting dalam pertahanan seluler terhadap stres oksidatif⁷⁰.

Sifat anti-oksidan *Centella asiatica* tercermin dalam pengurangan marker stres oksidatif. Penelitian telah menunjukkan bahwa ekstraknya dapat secara signifikan menurunkan kadar MDA, marker peroksidasi lipid, dan berpotensi mengurangi 8-OHdG, marker oksidasi DNA, melalui peningkatan aktivitas enzim anti- oksidan dan pembersihan langsung radikal bebas^{66,68}. Studi eksperimental pada model hewan dan kultur sel telah menunjukkan kemanjuran *Centella asiatica* dalam mengurangi marker stres oksidatif. Misalnya, pada tikus paruh baya, pengobatan dengan ekstrak *Centella asiatica* menyebabkan penurunan kandungan MDA dan peningkatan aktivitas enzim anti- oksidan, mendukung perannya dalam perlindungan saraf dan peningkatan kognitif⁶⁶.

Meskipun efek anti-oksidan *Centella asiatica* didokumentasikan dengan baik, penting untuk mempertimbangkan variabilitas kemanjurannya karena faktor-faktor seperti metode ekstraksi dan konsentrasi senyawa. Metode pengeringan yang berbeda, misalnya, dapat mengubah profil fitokimia dan aktivitas anti-oksidan ekstrak⁶⁸. Selain itu, keberadaan senyawa bioaktif lainnya, seperti flavonoid dan fenol, juga dapat berkontribusi pada kapasitas anti-oksidannya secara keseluruhan⁷¹. Faktor-faktor ini menyoroti kompleksitas tindakannya dan kebutuhan akan persiapan standar untuk memaksimalkan manfaat terapeutik.

Kesimpulannya, *Centella asiatica* memberikan efek anti- oksidannya melalui kombinasi aktivitas triterpene, peningkatan enzim anti-oksidan, dan modulasi ekspresi gen. Mekanisme ini secara kolektif berkontribusi pada pengurangan marker stres oksidatif seperti MDA dan 8-OHdG, menggaris bawahi potensinya sebagai agen terapeutik terhadap kondisi terkait stres oksidatif.



BAB III

KERANGKA TEORI DAN KERANGKA KONSEP

3.1. Kerangka Teori

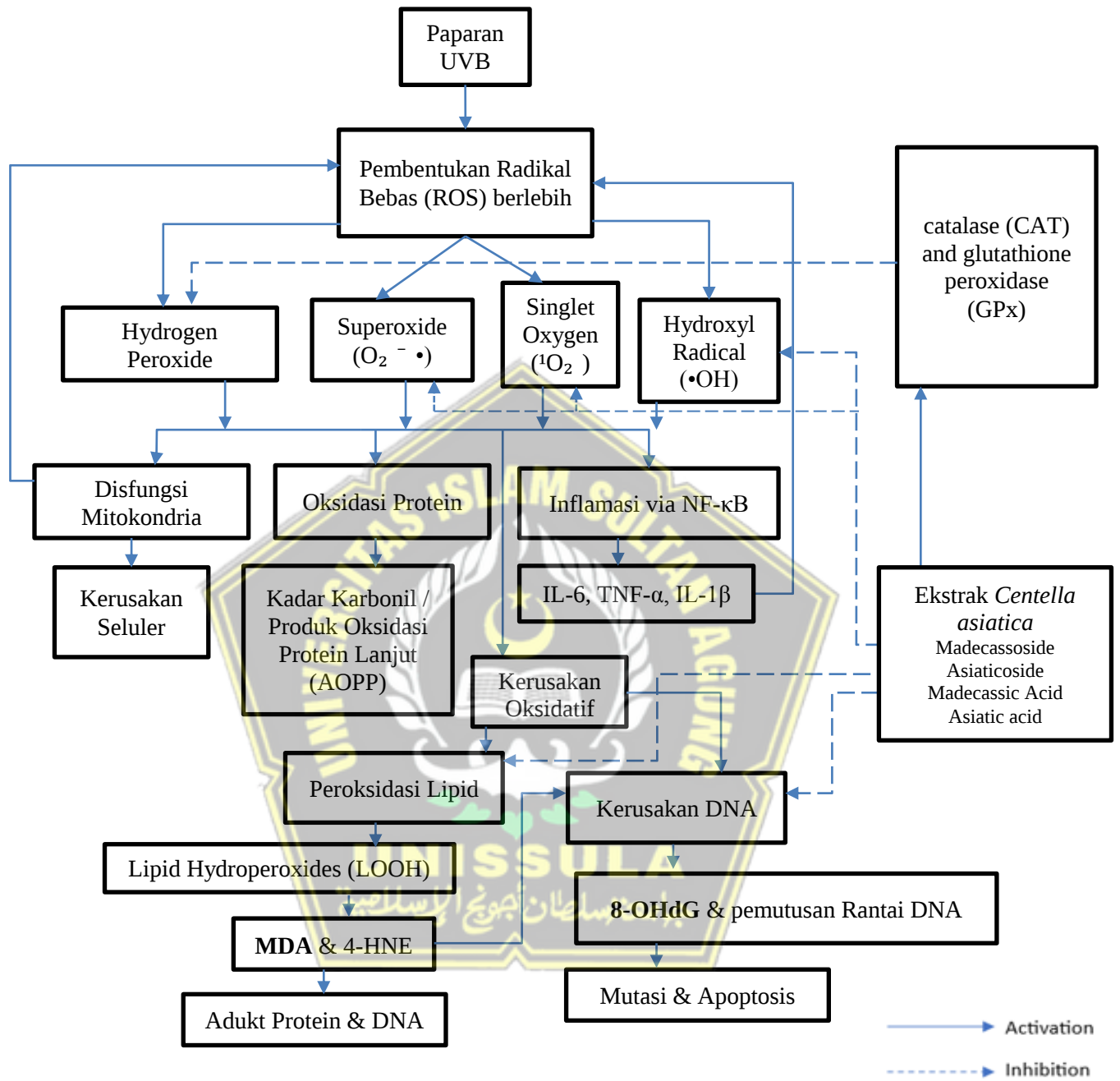
Paparan radiasi ultraviolet B (UVB) dari sinar matahari merupakan inisiator utama dari pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) secara berlebih di dalam jaringan kulit. Proses ini menghasilkan berbagai molekul radikal bebas yang sangat reaktif, seperti anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil ($\bullet OH$), dan oksigen singlet (1O_2), yang secara agresif mencari elektron dari molekul di sekitarnya. Lonjakan produksi ROS ini mengganggu homeostasis redoks seluler, menciptakan kondisi patologis yang dikenal sebagai stres oksidatif, yakni suatu keadaan di mana laju produksi pro-oksidan melampaui kapasitas sistem pertahanan antioksidan endogen tubuh.

Dalam kondisi normal, tubuh memiliki sistem pertahanan enzimatik yang terdiri dari superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), dan glutathion peroksidase (GPx) untuk menetralkan ROS. Namun, paparan UVB yang intens dapat menyebabkan deplesi atau penurunan aktivitas sistem antioksidan ini, sehingga pertahanan seluler menjadi tidak memadai. Akibatnya, ROS yang tidak terkendali akan memicu kaskade kerusakan oksidatif terhadap berbagai makromolekul biologis. Ini mencakup oksidasi protein yang menghasilkan produk oksidasi protein tingkat lanjut (AOPP), peroksidasi lipid pada membran sel, serta kerusakan pada DNA. Selain itu, stres oksidatif juga menginduksi jalur inflamasi melalui aktivasi NF- κ B

yang melepaskan sitokin pro-inflamasi, memperparah kerusakan jaringan secara keseluruhan.

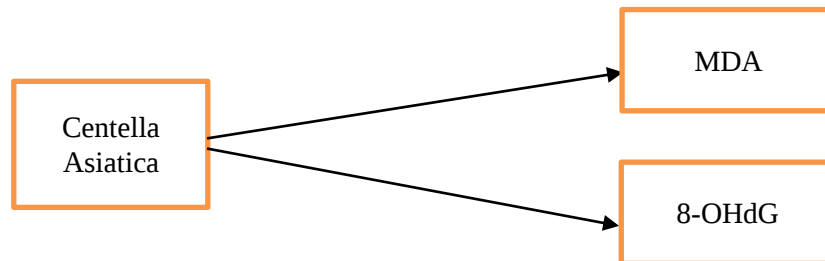
Secara spesifik, serangan radikal bebas terhadap asam lemak tak jenuh ganda di membran sel akan memicu reaksi berantai peroksidasi lipid. Proses ini tidak hanya merusak integritas struktural dan fungsional membran, tetapi juga menghasilkan aldehida sitotoksik sekunder, di mana *malondialdehyde* (MDA) menjadi penanda utamanya. Secara paralel, kerusakan oksidatif pada materi genetik juga terjadi. Guanin, salah satu basa nukleotida, sangat rentan terhadap oksidasi, yang mengarah pada pembentukan 8-hidroksi-2'-deoksiguanosin (8-OHdG). Akumulasi 8-OHdG ini merupakan indikator penting dari kerusakan DNA oksidatif yang bersifat pre-mutagenik dan dapat memicu ketidakstabilan genom.

Dalam kerangka patofisiologi ini, ekstrak *Centella asiatica* dipostulasikan bekerja melalui mekanisme protektif multifaset. Ekstrak ini tidak hanya bertindak sebagai antioksidan eksogen yang mampu menetralkan ROS secara langsung, tetapi juga secara aktif menghambat kaskade peroksidasi lipid dan kerusakan DNA. Senyawa bioaktif di dalamnya diyakini dapat meningkatkan (*upregulate*) sistem pertahanan antioksidan endogen, seperti meningkatkan aktivitas enzim katalase (CAT) dan glutathione peroksidase (GPx). Melalui penekanan pembentukan radikal bebas sekaligus memperkuat pertahanan alami tubuh ekstrak *Centella asiatica* berpotensi untuk mengurangi kerusakan oksidatif kumulatif, yang tercermin dalam penurunan kadar MDA dan 8-OHdG.



Gambar 3.1. Kerangka Teori

3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah aplikasi krim ekstrak *Centella asiatica* dengan konsentrasi 5% dan 10% akan berpengaruh terhadap ekspresi MDA dan kadar 8-OHdG pada kulit tikus wistar yang mengalami kerusakan akibat paparan radiasi UVB dibandingkan dengan kontrol.

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental *in vivo* dengan rancangan *post-test only control group* dengan *completely randomized design* (acak lengkap) di mana hewan uji akan dibagi ke dalam beberapa kelompok perlakuan berdasarkan agen topikal yang diberikan. *Niacinamide* 5% digunakan sebagai kontrol positif, mengingat efektivitasnya untuk menghambat inflamasi akibat paparan UVB sehingga memiliki mekanisme kerja yang relevan dengan parameter penelitian. Perbandingan antara kelompok yang menerima *Centella asiatica* dengan kelompok *niacinamide* akan membantu menilai efektivitas relatif ekstrak herbal ini terhadap kontrol yang telah terbukti secara klinis⁷².

4.2. Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1. Populasi Penelitian

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari tikus jenis Wistar jantan (*Rattus Norvegicus*) berusia antara 8 hingga 10 minggu, menunjukkan kisaran berat badan 150 hingga 200-gram, yang diperoleh dari Gedung IBL Universitas Islam Sultan Agung di Semarang. Tikus Wistar dinilai oleh dokter hewan dan dianggap sehat dan cocok untuk digunakan dalam upaya penelitian.

4.2.2. Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa tikus Wistar jantan berwarna putih dengan berat badan 150–200 gram dan usia 8–10 minggu. Hewan coba memiliki kulit normal dan sehat tanpa luka, lesi, atau tanda-tanda infeksi, serta tidak pernah digunakan dalam penelitian lain sebelumnya. Selama penelitian, tikus diberi pakan standar dengan akses *ad libitum* terhadap makanan dan air, dan ditempatkan dalam kondisi lingkungan standar dengan siklus terang–gelap 12 jam, suhu $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, serta kelembaban $55 \pm 10\%$.

4.2.3. Kriteria Inklusi dan *Drop-out*

4.2.3.1. Kriteria Inklusi

1. Tikus putih jantan galur wistar.
2. Tikus harus memiliki berat antara 150-200 gram dan berusia 8-10 minggu.
3. Kulit normal dan sehat tanpa luka, lesi, atau tanda-tanda infeksi sebelumnya.

4.2.3.2. Kriteria *Drop Out*

Tikus yang masuk kriteria *drop out* pada penelitian ini adalah Tikus mati atau infeksi selama penelitian.

4.3. Variabel dan Definisi Operasional Penelitian

4.3.1. Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian diklasifikasikan sebagai berikut:

1. Variabel Bebas:

- a. Pemberian krim ekstrak *Centella asiatica* topikal
- b. Pemberian *Niacinamide* topikal dengan konsentrasi 5%

2. Variabel Terikat:

- a. Ekspresi Malondialdehida (MDA)
- b. Kadar 8-Hidroksi-2-Deoksiguanosin (8-OHdG)

4.3.2. Definisi Operasional Penelitian

1. Krim Ekstrak *Centella asiatica*

Krim yang mengandung ekstrak *Centella asiatica* dengan konsentrasi 5% dan 10%. *Centella asiatica* diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Setelah diperoleh ekstrak kental dibuat sediaan krim menggunakan krim vehikulum dengan dosis 5% dan 10%. Krim vehikulum yang digunakan sebagai basis krim standar adalah formula minyak dalam air (M/A) yang terdiri dari fase minyak (asam stearat 15%, setil alkohol 4%, propil paraben 0,05%) dan fase air (trietanolamin 1%, gliserin 8%, metil paraben 0,1%, dan aquades ad 100). Krim Ekstrak *Centella asiatica* diaplikasikan dua kali sehari sebanyak 0,3 g pada area kulit punggung tikus yang telah terpapar UVB selama 14 hari. *Centella asiatica* kering didapat dari UPF

Pelayanan Kesehatan Tradisional Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Pembuatan krim ekstrak *Centella asiatica* dilakukan di Laboratorium Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Satuan: mg

Skala: Ordinal

2. Krim *niacinamide*

Krim yang mengandung *niacinamide* dengan konsentrasi 5% dari PT Derma Konsep Estetika dan diaplikasikan dua kali sehari pada area kulit punggung tikus selama 14 hari.

Satuan: mg

Skala: Nominal

3. Malondialdehida (MDA)

Ekspresi MDA adalah terlacaknya molekul MDA dalam lapisan dermis yang ditandai dengan munculnya warna coklat yang dinyatakan dalam satuan persen. Penghitungan atau *scoring* ekspresi MDA dilakukan secara kuantitatif untuk memperoleh nilai persentase area positif (% Area). Proses ini terdiri dari dua tahapan utama, yakni pengambilan gambar dan analisis gambar. Pada tahap pengambilan gambar, empat area jaringan dengan ekspresi MDA yang tinggi (*high dense area*) dan tidak saling tumpang tindih dipilih dari setiap preparat (*slide*). Pengambilan gambar dilakukan secara konsisten menggunakan kamera Optilab

pro yang terhubung dengan mikroskop Olympus BX51, dengan mempertahankan konsistensi pencahayaan dan perbesaran mikroskop untuk memastikan seluruh hasil dapat dibandingkan dan dianalisis. Seluruh gambar yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan perangkat lunak ImageJ versi 1.54p. Gambar pertama-tama dikonversi menjadi skala abu-abu (8-bit) untuk memudahkan analisis kuantitatif. Selanjutnya, fungsi *thresholding* (ambang batas) yang terkalibrasi digunakan untuk memisahkan piksel gambar secara objektif melalui identifikasi ambang batas intensitas warna, di mana semua piksel yang mewakili ekspresi positif (baik coklat tua maupun muda) akan dikonversi menjadi hitam (area positif), dan semua piksel latar belakang (area tidak terekspresi) akan dikonversi menjadi putih. *Software* ImageJ akan digunakan untuk menghitung persentase area yang tertutup oleh piksel hitam terhadap total area jaringan yang dianalisis. Persentase inilah yang digunakan sebagai nilai akhir ekspresi MDA untuk setiap area pandang. Ekspresi MDA dianalisis pada akhir minggu ke-4 setelah induksi UVB dan pemberian perlakuan. Antibodi yang digunakan adalah antibodi poliklonal kelinci terhadap Malondialdehyde (MDA) (katalog no. PAA597Ge01; produsen: Cloud-Clone Corp.). Antibodi ini memiliki reaktivitas *pan-species* (umum) yang dapat mendeteksi MDA pada berbagai spesies, termasuk tikus putih. Sesuai

spesifikasinya, antibodi ini diproduksi dari host kelinci menggunakan immunogen CPA597Ge21-OVA *Conjugated* Malondialdehyde (MDA) dan digunakan untuk deteksi Malondialdehyde (MDA) pada spesimen jaringan dengan teknik imunohistokimia.

Satuan: %

Skala: Rasio

4. 8-Hidroksi-2-Deoksiganosin (8-OHdG)

Kadar 8-OHdG yang diproduksi oleh jaringan kulit pada sampel penelitian dianalisis pada akhir minggu ke-4 setelah induksi UVB dan pemberian perlakuan, kadar 8-OHdG dianalisis menggunakan metode ELISA. Kit ELISA yang digunakan adalah Rat 8-Hydroxy-deoxyguanosine (8-OHdG) ELISA Kit (katalog no. BZ-08181300-EA; produsen: BIOENZY). Pengujian dilakukan sesuai dengan protokol pabrikan.

Satuan: pg/mL

Skala: Rasio

4.4. Bahan atau Materi Penelitian

4.4.1. Bahan Penelitian

1. Krim *Centella asiatica* konsentrasi 5% dan 10%
2. Krim *niacinamide* konsentrasi 5%
3. Elisa kit untuk kadar 8-OHdG
4. Antibodi primer MDA

5. Antibodi sekunder terkonjugasi HRP

4.4.2. Materi Penelitian

1. Lampu Phillips narrowband UVB type PL-S 9W/01/2P
2. Homogenizer
3. Sentrifuge
4. Microplate reader
5. Timbangan analitik
6. pH meter
7. Vortex mixer
8. Mikroskop Olympus BX51
9. Software ImageJ 1.54p
10. Kamera Optilab Pro

4.5. Cara Penelitian

1. Perolehan *Ethical Clearance*

Permintaan persetujuan etika yang berkaitan dengan studi penelitian ini secara resmi disampaikan kepada komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

2. Cara pembuatan ekstrak *Centella asiatica*

Ekstrak *Centella asiatica* diperoleh melalui maserasi dengan pelarut etanol 96%. Sebanyak 1000-gram simplisia kering yang berasal dari UPF Pelayanan Kesehatan Tradisional Tawangmangu direndam dalam 1-liter etanol 96% selama 24 jam, kemudian disaring. Proses ini

diulangi tiga kali. Filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga menjadi ekstrak kental.

3. Pembuatan Sediaan Krim Ekstrak *Centella asiatica*

Pembuatan krim ekstrak *Centella asiatica* yaitu dengan penggunaan basis krim standar (plasebo) yang kemudian ditambahkan ekstrak daun pegagan 5% dan 10% dalam wadah terpisah yang telah disiapkan. Kemudian campuran tersebut terus diaduk hingga tercampur rata.

Pembuatan basis krim dilakukan dengan meleburkan fase minyak yaitu asam stearat, setil alkohol, dan propil paraben diatas penangas air. Kemudian fase air yaitu trietanolamin, gliserin, metil paraben dan aquades dipanaskan diatas penangas air. Dimasukkan fase minyak ke dalam mortir panas lalu ditambahkan fase air dan digerus hingga terbentuk basis krim.

Tabel 4.1. Formulasi Basis Krim¹⁹

Bahan	Formula Minyak dalam Air (%)
Asam stearat	15
Setil alkohol	4
Trietanolamin	1
Gliserin	8
Metil paraben	0,1
Propil paraben	0,05
Aquades	Ad 100

Pembuatan basis krim/krim vehikulum dikerjakan di Gedung Integrated Biomedical Laboratory (IBL) Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Masing-masing dosis dibuat sebanyak 50 gram, untuk krim Ekstrak *Centella asiatica* dosis 5% menggunakan basis krim sebanyak 47,5-gram ditambahkan Ekstrak *Centella asiatica* sebanyak 2,5-gram

sedangkan untuk krim Ekstrak *Centella asiatica* dosis 10% menggunakan basis krim sebanyak 45-gram dan ditambah Ekstrak *Centella asiatica* sebanyak 5 gram.

4. Penetapan Dosis

Penetapan dosis untuk pemberian topikal ekstrak pegagan didasarkan pada tinjauan literatur komprehensif yang mempertimbangkan stabilitas formulasi dan efektivitas biologis. Beberapa penelitian sebelumnya telah memvalidasi kelayakan penggunaan konsentrasi ini dalam sediaan topikal. Penelitian oleh Sulistiyana Putri V, *et al.* berhasil mengembangkan formulasi krim yang stabil pada konsentrasi 10%¹⁰, sementara studi oleh Sabiti F, *et al.* menunjukkan stabilitas fisik yang baik untuk sediaan gel pada konsentrasi 5%¹¹.

Lebih lanjut, efektivitas biologis dari dosis-dosis yang stabil secara formulasi ini juga telah terbukti. Penelitian oleh Ratz-Lyko A, *et al.* mengonfirmasi bahwa ekstrak 5% memiliki sifat anti-inflamasi pada kulit manusia¹². Secara lebih spesifik dan relevan dengan penelitian ini, studi oleh Diah Rahmawati Y *et al.* menunjukkan bahwa aplikasi topikal ekstrak 10% secara signifikan dapat menurunkan kadar MDA pada tikus yang dipapar UVB¹³. Berdasarkan bukti gabungan yang menunjukkan bahwa konsentrasi 5% dan 10% stabil secara formulasi dan efektif secara biologis, maka kedua dosis tersebut dipilih untuk digunakan dalam penelitian ini.

5. Penyinaran UVB dan Pemberian Perlakuan pada Subjek Percobaan

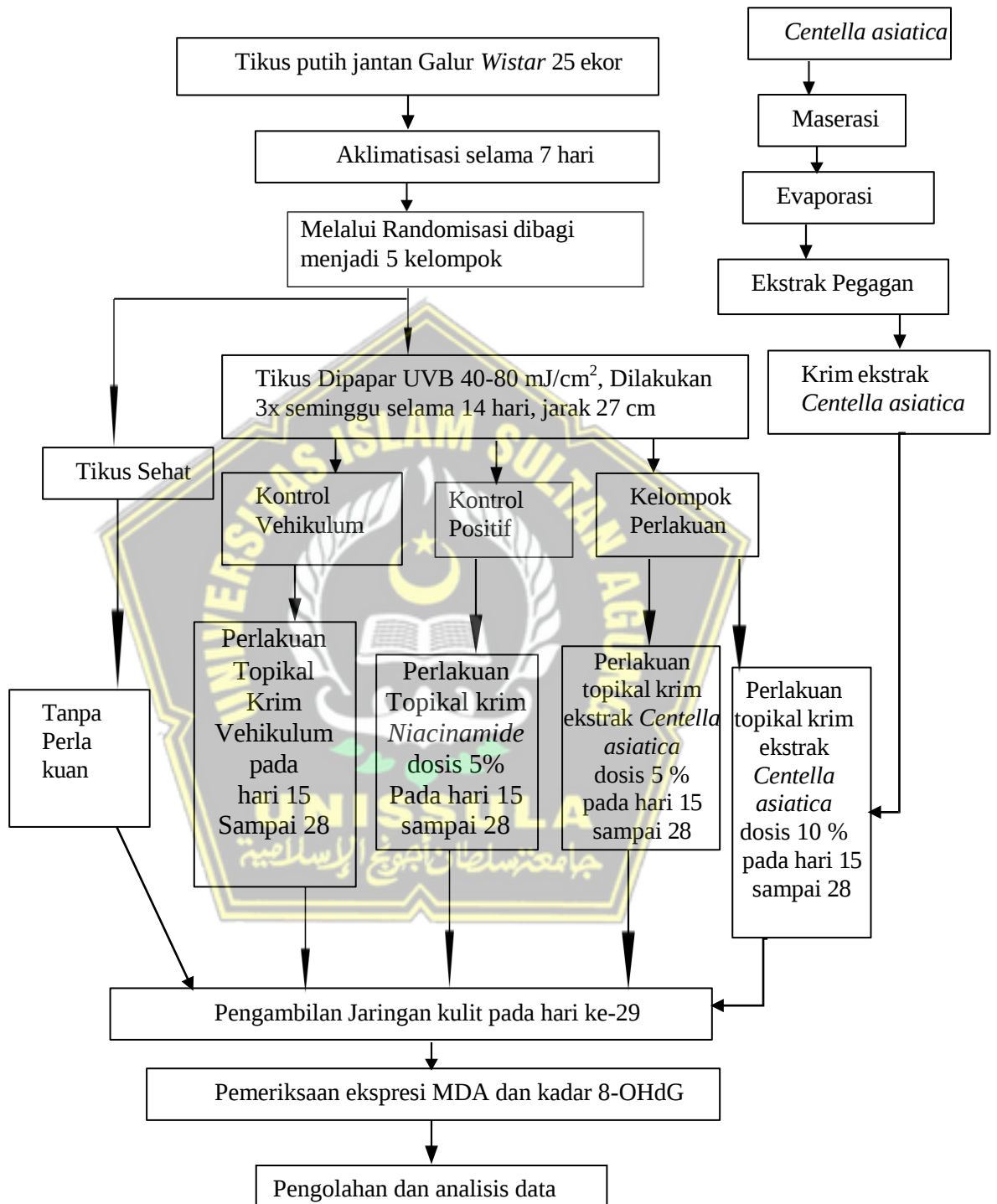
Studi *photoaging* pada model tikus umumnya menggunakan paparan radiasi UVB dalam spektrum 290–315 nm dengan panjang gelombang puncak 312 nm^{73,74}, dosis 2 Minimal Erythema Dose (MED, 40–80 mJ/cm²)⁷⁴, serta sesi berulang selama beberapa minggu untuk menginduksi perubahan struktural pada kulit. Studi *photoaging* oleh Altman *et al* telah menerapkan standar Jarak paparan sejauh 27 cm⁷⁵. Berdasarkan standar tersebut:

- a. Tikus menjalani periode aklimatisasi 1 minggu setelah kedatangan di fasilitas penelitian.
- b. Bulu punggung tikus dicukur bersih.
- c. Daerah punggung tikus dipaparkan UVB pada jarak 27 cm, menerapkan 2 kali MED 60 mJ/cm² selama 30 menit, pada 8 sesi, selama 14 hari.

6. Pengambilan Sampel Jaringan

Pengambilan sampel kulit dilakukan pada akhir minggu ke-4. Tikus dianestesi menggunakan ketamin dan xylazine intraperitoneal (dosis 100 mg/kg BB dan 10 mg/kg BB). Area punggung yang telah diaplikasikan ekstrak dicuci dengan NaCl fisiologis. Setelah itu, tikus dieutanasia sesuai protokol etik, dan sampel jaringan kulit dari area perlakuan diambil untuk analisis lebih lanjut.

4.6. Alur Penelitian



Gambar 4.1. Alur Penelitian

4.7. Teknik Pengumpulan Data Penelitian

4.7.1. Cara Pengumpulan Data Penelitian

Sampel dipilih secara acak. Tikus putih jantan strain Wistar dibagi ke dalam lima kelompok berbeda, yaitu kelompok sehat, kelompok Kontrol Positif (tikus yang terpapar UVB dan diberikan aplikasi topikal *niacinamide* 5%), kelompok Kontrol Vehikulum (tikus yang terpapar UVB dengan aplikasi krim Vehicle atau plasebo), serta dua kelompok perlakuan (tikus yang terpapar UVB dan diberikan aplikasi topikal krim ekstrak pegagan dengan konsentrasi 5% dan 10%). Pengambilan sampel jaringan dilakukan pada hari ke-29 setelah paparan UVB dan pemberian perlakuan untuk mengukur ekspresi MDA dan kadar 8-OHdG.

4.7.2. Besar Sampel

Untuk menghitung ukuran sampel ideal, kita bisa menggunakan rumus Federer untuk penelitian eksperimental:

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

Dimana:

T = jumlah kelompok perlakuan N = jumlah sampel per kelompok

Dalam kasus ini, t = 5 (5 kelompok perlakuan), jadi: $(5-1)(n-1) \geq 15$

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$N \geq 5$$

Jadi, minimal 5 sampel per kelompok sudah cukup.

4.7.3. Pengambilan Sampel Jaringan

Biopsi kulit dilakukan pada hari ke-29. Tikus dianestesi menggunakan ketamin dan xylazine intraperitoneal (dosis 100 mg/kg BB dan 10 mg/kg BB). Area punggung yang telah diaplikasikan ekstrak dicuci dengan NaCl fisiologis, kemudian dilakukan biopsi kulit dengan punch biopsy berdiameter 6 mm. Sampel kulit yang diperoleh dimanfaatkan untuk analisis ELISA 8-OHdG dan Malondialdehyde (MDA) menggunakan metode IHC.

4.7.4. Analisis Kadar 8-OHdG menggunakan ELISA

Sampel kulit dihancurkan menggunakan homogenizer dalam buffer lisis yang mengandung protease inhibitor. Plate ELISA dilapisi dengan antibodi terhadap 8-OHdG kemudian diinkubasi dengan sampel yang telah diekstrak. Setelah inkubasi, plate dicuci dan ditambahkan larutan deteksi yang mengandung konjugat enzim. Setelah penambahan substrat, absorbansi diukur pada panjang gelombang 450 nm menggunakan microplate reader.

4.7.5. Analisis ekspresi MDA menggunakan IHC

Proses analisis kepadatan serabut kolagen dilakukan setelah pengambilan sampel jaringan yang telah melewati proses immunohistokimia (IHC). Metode IHC dipilih untuk analisis ekspresi MDA karena memiliki spesifisitas tinggi dan dapat digunakan untuk menilai peroksidasi lipid dalam jaringan patologis

⁷⁸. Keunggulan lainnya adalah IHC menggunakan antibodi spesifik untuk MDA-adducts, sehingga deteksinya lebih selektif dibandingkan TBARS assay, yang dapat bereaksi dengan produk peroksidasi lipid lain. HPLC dan ELISA memang lebih kuantitatif, tetapi membutuhkan tahap ekstraksi sampel, yang bisa menyebabkan degradasi atau kehilangan senyawa MDA ⁷⁹. Tahapan awal IHC meliputi deparafinasi sampel jaringan yang sebelumnya sudah dibekukan, kemudian dilakukan rehidrasi melalui serangkaian penurunan konsentrasi alkohol. Setelah itu, sampel diproses dengan *heat-induced antigen retrieval* (pemulihan antigen) untuk meningkatkan visibilitas epitope target, diikuti dengan pemberian blokade non-spesifik ^{80,81}. Sampel kemudian diinkubasi dengan antibodi primer spesifik MDA yang kemudian diikuti oleh antibodi sekunder yang terkonjugasi dengan enzim peroksidase atau fluorokrom ^{82,83}. Penambahan substrat memungkinkan terbentuknya hasil warna atau fluoresensi yang menunjukkan keberadaan MDA-adducts dalam jaringan. Setelah pewarnaan selesai, preparat dipasang pada slide kaca dan disiapkan untuk pengamatan mikroskopik.

Di bawah mikroskop, ekspresi MDA dalam jaringan akan diamati kemudian diambil gambarnya menggunakan kamera Optilab Pro yang terhubung dengan mikroskop Olympus BX-51. Pengambilan gambar dilakukan dengan mempertimbangkan

konsistensi dalam pencahayaan dan perbesaran mikroskop agar hasil yang diperoleh dapat dianalisis dengan baik.

Selanjutnya, gambar yang telah diambil dari masing-masing sampel dianalisis menggunakan perangkat lunak ImageJ. Hasil dinyatakan positif jika warna coklat (DAB) atau merah (AEC) yang menunjukkan adanya MDA dalam jaringan.

4.8. Metode analisis data

Data dianalisis secara menyeluruh dengan pendekatan statistik deskriptif, pemeriksaan normalitas, dan uji homogenitas. Untuk menilai normalitas distribusi data, digunakan uji *Shapiro-wilk*, sedangkan uji *Levene* digunakan untuk menguji homogenitas varians. Jika data memenuhi asumsi distribusi normal dan varians yang homogen, maka analisis dilakukan menggunakan uji ANOVA Satu Arah parametrik, yang kemudian diikuti dengan uji *Post Hoc Tukey* untuk menentukan perbedaan antar kelompok. Namun, jika data tidak berdistribusi normal dan memiliki varians yang heterogen, maka uji *Kruskal-wallis* digunakan, diikuti oleh uji *Dunn* untuk mengevaluasi perbedaan antar kelompok. Batas signifikansi statistik yang digunakan dalam analisis ini adalah $p < 0.05$. Seluruh proses analisis data dilakukan menggunakan perangkat lunak GraphPad Prism versi 10.3.0 pada sistem operasi Windows 11.

4.9. Jadwal Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilakukan selama 3 bulan, yang dilakukan pada bulan Juli – Oktober 2025. Seluruh prosedur penelitian dilaksanakan di Gedung Integrated Biomedical Laboratory (IBL) Universitas Islam Sultan Agung Semarang untuk metode ELISA dan Laboratorium Universitas Negeri Sebelas Maret Surakarta untuk metode IHC.



BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

Penelitian eksperimental *in vivo* ini menggunakan total 25 ekor tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) galur *Wistar*. Seluruh subjek penelitian dibagi secara acak ke dalam lima kelompok perlakuan (n=5). Kelompok Sehat, tidak dipapar UVB dan tidak diberi perlakuan (K1). Kelompok Kontrol Vehikulum, dipapar UVB dan diberi aplikasi topikal krim vehikulum (plasebo) (K2). Kelompok Kontrol Positif, dipapar UVB dan diberi aplikasi topikal krim *Niacinamide* 5% (K3). Kelompok Perlakuan 1, dipapar UVB dan diberi aplikasi topikal krim ekstrak *Centella asiatica* 5% (K4). Kelompok Perlakuan 2, dipapar UVB dan diberi aplikasi topikal krim ekstrak *Centella asiatica* 10% (K5). Penelitian pengukuran kadar 8-OHdG telah dilakukan menggunakan metode ELISA di IBL UNISSULA dan dinyatakan dalam satuan pg/mL, sementara pengukuran ekspresi MDA juga telah dilaksanakan menggunakan metode IHC dan Analisis kuantitatif area positif imunohistokimia menggunakan *software* ImageJ di Laboratorium patologi anatomi UNS dan dinyatakan dalam satuan %.

5.1.1. Evaluasi Makroskopis Kulit Punggung Tikus

Perubahan pada kulit punggung tikus diamati secara visual tanpa alat bantu (makroskopis) untuk menilai efek paparan UVB selama periode induksi. Foto diambil pada tiga waktu berbeda: sebelum paparan (Hari ke-0), di tengah periode (Hari ke-7), dan di

akhir periode (Hari ke-14) (lihat Gambar 5.1).

Awalnya (Gambar 5.1A), kulit punggung tikus yang bulunya telah dicukur tampak sehat; permukaannya mulus, kenyal, berwarna krem keputihan, serta tidak menunjukkan adanya luka, kemerahan (eritema), atau bercak warna berlebih (pigmentasi). Setelah tujuh hari terpapar UVB (Gambar 5.1B), tanda-tanda kerusakan awal mulai tampak, berupa kemerahan ringan dan beberapa bercak kecil berwarna gelap (makula hiperpigmentasi) yang tersebar.

Pada hari ke-14 (Gambar 5.1C), kerusakan kulit menjadi semakin parah dan terlihat jelas. Bercak-bercak pigmentasi tampak lebih banyak, lebih besar, dan warnanya lebih gelap dibandingkan minggu sebelumnya. Kulit juga terlihat menebal, terasa kasar, dan muncul keriput-keriput halus, yang menandakan adanya reaksi penebalan lapisan kulit (hiperkeratosis). Perubahan signifikan yang terlihat ini memastikan bahwa paparan UVB sub-akut telah berhasil menyebabkan kerusakan kulit mirip penuaan dini (*photoaging*), sehingga tikus siap untuk tahap pemberian perlakuan selanjutnya.



Gambar 5.1. Progresi Perubahan Makroskopis Kulit Punggung Tikus Akibat Paparan UVB. (A) Kondisi awal (Hari ke-0) menunjukkan kulit sehat. (B) Hari ke-7 menunjukkan eritema ringan dan bintik hiperpigmentasi awal. (C) Hari ke-14 menunjukkan hiperpigmentasi berat dan penebalan kulit.

5.1.2. Hasil analisis kadar 8-OHdG jaringan kulit pada tiap kelompok

Hasil analisis kadar 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) dalam jaringan kulit tikus disajikan pada Tabel 5.1. hasil analisis kadar 8-OHdG menunjukkan perbedaan yang jelas antar kelompok. Kadar 8-OHdG tertinggi ditemukan pada kelompok kontrol UVB + vehikulum (K2), dengan rata-rata $11,82 \pm 1,40$ pg/mL. Sebaliknya, kadar terendah secara signifikan teramati pada kelompok kontrol positif *Niacinamide* 5% (K3), yaitu $7,57 \pm 0,31$ pg/mL. Menariknya,

perlakuan dengan *Centella asiatica* menunjukkan respons yang bergantung pada dosis, seperti pada Kelompok *Centella asiatica* 5% (K4) yang berhasil menekan kadar 8-OHdG ($7,99 \pm 0,82$ pg/mL), mendekati level protektif yang ditunjukkan oleh *Niacinamide* (K3). Sebaliknya, kelompok *Centella asiatica* 10% (K5) justru menunjukkan kadar yang tetap tinggi ($11,76 \pm 1,87$ pg/mL), yang nilainya hampir identik dengan kelompok kontrol UVB (K2) yang tidak mendapat perlindungan.

Tabel 5.1. Hasil pengukuran kadar 8-OHdG pada berbagai kelompok

Kelompok	K1	K2	K3	K4	K5	P value
Kadar 8-OHdG (pg/mL)						
Mean	8,78	11,82	7,57	7,99	11,76	
SD	$\pm 1,86$	$\pm 1,40$	$\pm 0,31$	$\pm 0,82$	$\pm 1,87$	
Shapiro-wilk	0,0408*	0,9698	0,7422	0,8163	0,6091	
Levene Test						0.5291
Kruskal-wallis						0,0031*

Keterangan: Shapiro-wilk : Normal ($p > 0,05$)
 Levene Test : Homogen ($p > 0,05$)
 Kruskal-wallis : Signifikan ($p < 0,05$)

Uji normalitas data menggunakan Shapiro-wilk menunjukkan bahwa data pada kelompok K1 tidak terdistribusi normal ($p = 0,0408$), sedangkan kelompok lainnya memiliki distribusi normal ($p > 0,05$). Uji homogenitas varians menggunakan Levene's Test menghasilkan nilai $p = 0,5291$, yang mengindikasikan variansi antarkelompok bersifat homogen. Oleh karena asumsi normalitas tidak terpenuhi pada salah satu kelompok, digunakan uji statistik non-parametrik Kruskal-wallis. Hasil uji menunjukkan adanya perbedaan kadar 8-

OHdG yang sangat signifikan secara statistik antarkelompok perlakuan ($p = 0,0031$). Untuk mengidentifikasi kelompok mana yang berbeda, analisis dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Dunn* pada tabel 5.2.

Tabel 5.2. Hasil uji *Post-Hoc Dunn* kadar 8-OHdG

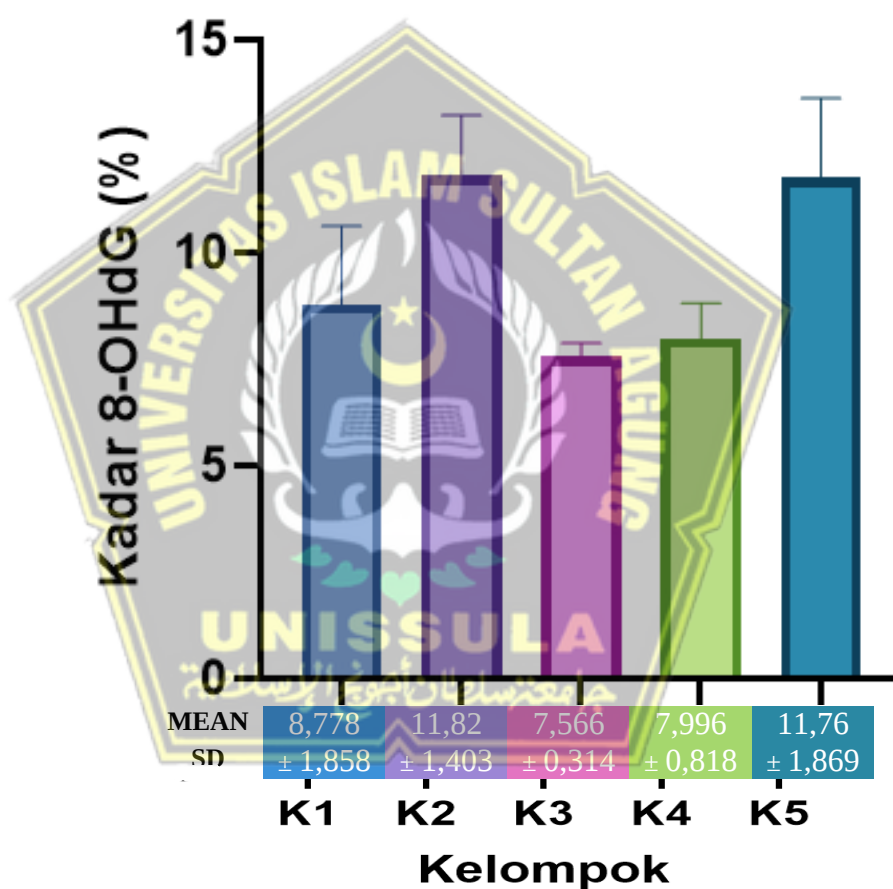
<i>Dunn's test</i> (<i>P value</i>)	Grup				
	Tikus Sehat (K1)	Krim vehikulum + UVB (K2)	<i>Niacinamide</i> 5% + UVB (K3)	<i>C. asiatica</i> 5% + UVB (K4)	<i>C. asiatica</i> 10% + UVB (K5)
K1		0,6456	>0,9999	>0,9999	0,5859
K2			0,0281*	0,1192	>0,9999
K3				>0,9999	0,0244*
K4					0,1054

Keterangan: *Dunn's test*: Signifikan ($p < 0,05$)

Analisis *post-hoc* menunjukkan bahwa pemberian *Niacinamide* (K3) secara signifikan menunjukkan kadar 8-OHdG yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol UVB + krim vehikulum (K2) ($p=0,0281$), yang menandakan adanya efek protektif yang jelas. Temuan ini diperkuat oleh perbandingan dengan kelompok *Centella asiatica* 10% (K5), yang gagal memberikan perlindungan. Kadar 8-OHdG pada kelompok *Niacinamide* (K3) juga ditemukan secara signifikan lebih rendah dibandingkan dengan kelompok *Centella asiatica* 10% (K5) ($p=0,0244$). Tidak ada perbedaan bermakna secara statistik antara kelompok *Centella asiatica* 10% (K5) dengan kelompok kontrol UVB + krim vehikulum (K2) ($p>0,9999$).

Meskipun secara deskriptif terdapat perbedaan rerata antara kelompok sehat (K1) dengan kelompok perlakuan lain, selisih

tersebut tidak cukup besar untuk dapat dibuktikan secara statistik dalam penelitian ini ($p > 0,05$). Demikian pula, perbedaan antara kelompok perlakuan lainnya (seperti K2 vs K4 dan K4 vs K5) tidak mencapai ambang batas signifikansi statistik. Seperti yang divisualisasikan pada (Gambar 5.2), kadar 8-OHdG pada jaringan kulit tikus bervariasi sesuai dengan perlakuan yang diberikan.



Gambar 5.2. Grafik rata-rata kadar 8-OHdG setiap kelompok perlakuan

5.1.3. Hasil analisis ekspresi MDA jaringan kulit pada tiap kelompok

Hasil analisis ekspresi MDA pada jaringan kulit tikus disajikan pada tabel 5.3. Rata-rata ekspresi pada kelompok sehat (K1) adalah $19,90 \pm 9,499\%$. Kelompok yang diberikan krim vehikulum dan

dipaparkan UVB (K2) menunjukkan ekspresi sebesar $32,05 \pm 19,45\%$. Pada kelompok *niacinamide* 5% (K3), ekspresi tercatat sebesar $26,73 \pm 10,32\%$. Kelompok *Centella asiatica* dosis 5% (K4) memiliki ekspresi sebesar $32,23 \pm 20,95\%$, sedangkan kelompok dosis 10% (K5) sebesar $21,59 \pm 15,56\%$.

Tabel 5.3. Hasil pengukuran ekspresi MDA pada berbagai kelompok

Kelompok	K1	K2	K3	K4	K5	P value
Ekspresi MDA (%)						
Mean	19,90	32,05	26,73	32,23	21,59	
SD	$\pm 9,499$	$\pm 19,45$	$\pm 10,32$	$\pm 20,95$	$\pm 15,56$	
<i>Shapiro-wilk</i>	0,6996	0,2476	0,1861	0,0409*	0,7292	
<i>Levene Test</i>						0,5835
<i>Kruskal-wallis</i>						0,7923

Keterangan: *Shapiro-wilk* : Normal ($p > 0,05$)
Levene Test : Homogen ($p > 0,05$)
Kruskal-wallis: Signifikan ($p < 0,05$)

Hasil rata-rata ekspresi MDA dari masing-masing kelompok dianalisis menggunakan uji normalitas *Shapiro-wilk* dan uji homogenitas *Levene Test*. Hasil uji menunjukkan bahwa data pada kelompok K4 tidak terdistribusi normal ($p = 0,0409$), sedangkan varians data antarkelompok bersifat homogen ($p = 0,5835$). Karena asumsi normalitas tidak terpenuhi, digunakan uji non-parametrik *Kruskal-wallis* yang menghasilkan $p = 0,7923$ ($p > 0,05$), menandakan tidak terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik antar kelompok secara keseluruhan.

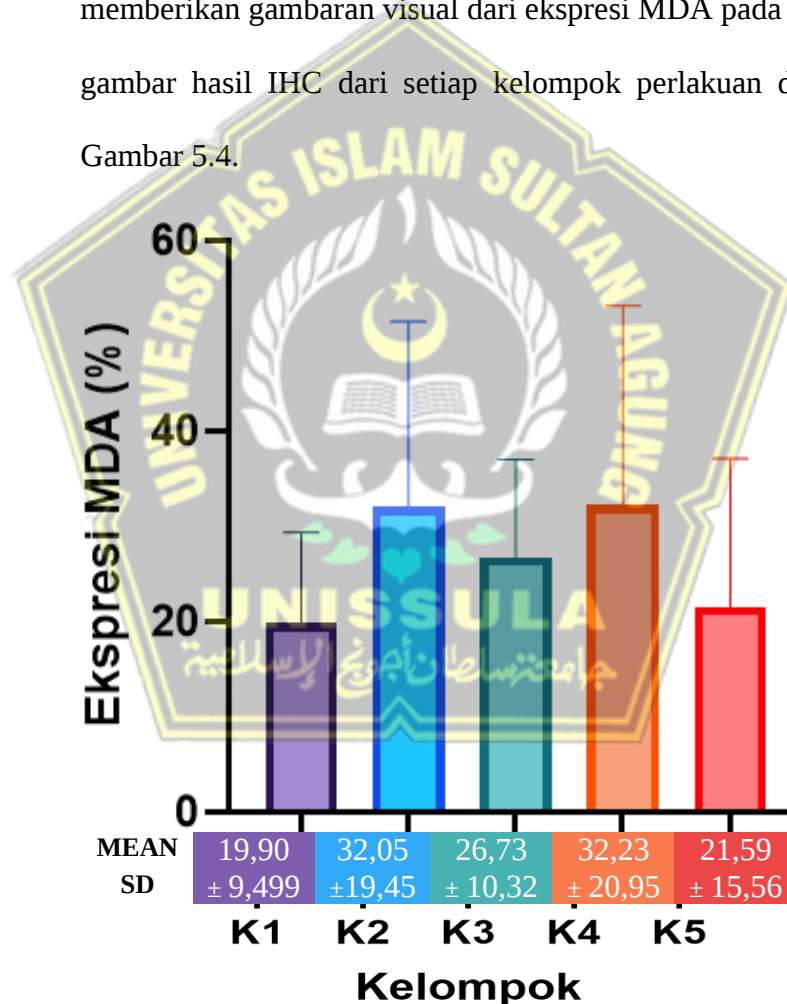
Meskipun demikian, analisis deskriptif pada rerata menunjukkan beberapa pola yang menarik. Kelompok paparan UVB

(K2) menunjukkan rerata ekspresi MDA yang secara substansial lebih tinggi dibandingkan kelompok sehat (K1). Menariknya, kelompok *Centella asiatica* 5% (K4) memiliki rerata ekspresi yang hampir identik dengan kelompok kontrol UVB + krim vehikulum (K2), mengindikasikan bahwa pada dosis ini, efek perlingkungannya belum terlihat jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Akibatnya, rerata pada kelompok K4 juga jauh lebih tinggi dibandingkan kondisi sehat (K1).

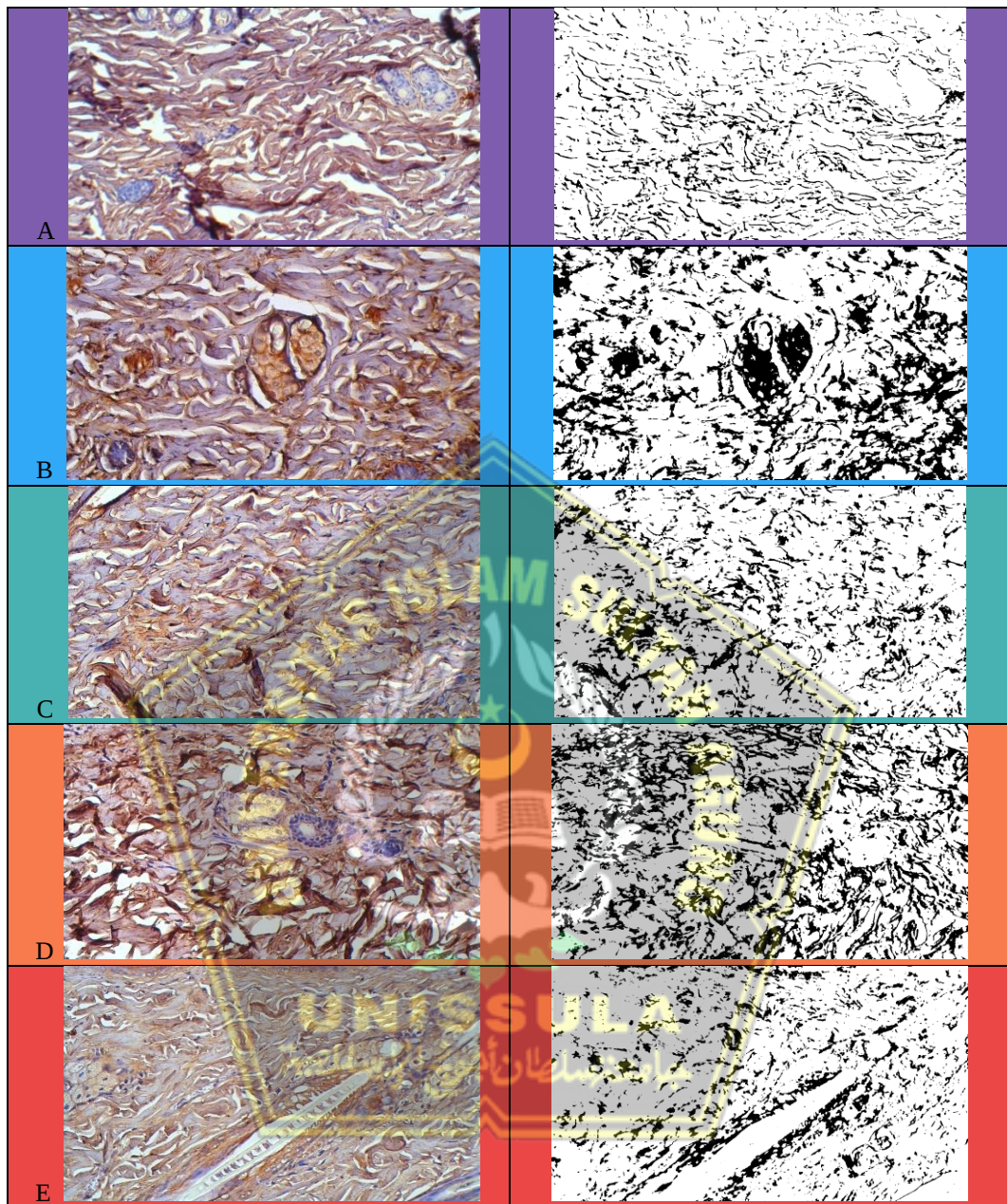
Sebaliknya, kelompok *Niacinamide* (K3) dan *Centella asiatica* 10% (K5) menunjukkan rerata kadar MDA yang lebih rendah dibandingkan kelompok UVB (K2). Perbedaan rerata antara kelompok *Niacinamide* (K3) dengan kelompok UVB (K2) terlihat tidak terlalu besar. Namun, kelompok *Centella asiatica* 10% (K5) menunjukkan rerata yang secara substansial lebih rendah dibandingkan kelompok UVB (K2). Temuan yang paling menonjol adalah saat membandingkan dengan kondisi sehat (K1) yaitu rerata kelompok *Niacinamide* (K3) masih menunjukkan selisih yang cukup jauh, sementara rerata pada kelompok *Centella asiatica* 10% (K5) hampir mendekati rerata kelompok sehat (K1). Hal ini mengindikasikan bahwa perlakuan dengan dosis 10% menghasilkan kadar MDA yang paling mendekati level normal.

Perbedaan yang cukup jelas juga terlihat pada perbandingan langsung antar dosis *Centella asiatica*, di mana rerata kelompok K5

secara signifikan lebih rendah daripada K4. Sementara itu, perbandingan antar kelompok perlakuan lain, seperti *Niacinamide* (K3) dengan *Centella asiatica* 5% (K4) maupun dengan *Centella asiatica* 10% (K5), menunjukkan selisih rerata yang tidak terlalu besar. Hasil visualisasi diagram batang ekspresi MDA pada seluruh kelompok perlakuan disajikan pada Gambar 5.3, Sementara untuk memberikan gambaran visual dari ekspresi MDA pada jaringan kulit, gambar hasil IHC dari setiap kelompok perlakuan disajikan pada Gambar 5.4.



Gambar 5.3. Grafik rata-rata ekspresi MDA setiap kelompok



Gambar 5.4. Gambaran Histopatologi Ekspresi MDA pada Jaringan Kulit Tikus.

Pewarnaan Imunohistokimia (IHC) dengan perbesaran 200x menunjukkan area ekspresi positif (coklat). (A) Kelompok Sehat (K1), (B) Kelompok Kontrol UVB + krim vehikulum (K2), (C) Kelompok *Niacinamide* (K3), (D) Kelompok *Centella asiatica* 5% (K4), (E) Kelompok *Centella asiatica* 10% (K5).

5.2. Pembahasan

Pada parameter kerusakan DNA oksidatif (8-OHdG), terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antar kelompok ($p=0,0031$). Paparan UVB (K2) secara biologis menyebabkan kerusakan DNA yang lebih tinggi dibandingkan kelompok sehat (K1), meskipun tidak signifikan secara statistik ($p=0,6456$). Pola di mana terdapat perbedaan signifikan secara keseluruhan (ANOVA) namun beberapa perbandingan berpasangan tidak signifikan adalah hal yang umum dalam studi biologis. Sesuai dengan penelitian oleh Williams et al. tahun 2013 bahwa meskipun paparan UVB akut memicu pembentukan MDA (penanda stres oksidatif), perbandingan antara jaringan yang rusak (BCC) dan jaringan normal di sekitarnya tidak signifikan ($p=0,0829$), yang menunjukkan adanya variabilitas dalam perbandingan berpasangan²².

Efek protektif yang paling jelas dan signifikan terlihat pada kelompok *Niacinamide* (K3), yang kadarnya secara signifikan lebih rendah dibandingkan K2 ($p=0,0281$). Hal ini konsisten dengan literatur. Sesuai dengan penelitian oleh Marques et al. tahun 2024 dan Surjana et al. tahun 2010 bahwa *Niacinamide* memang memiliki kemampuan dalam mendukung perbaikan DNA dan menekan stres oksidatif^{7,8}.

Kelompok *Centella asiatica* 5% (K4) juga menunjukkan kadar yang lebih rendah dibandingkan K2, meskipun p-value-nya tidak signifikan ($p=0,1192$). Tren ini mengindikasikan potensi protektif yang kuat secara biologis, yang kemungkinan tidak terdeteksi secara signifikan karena

keterbatasan ukuran sampel. Temuan ini sejalan dengan penelitian lain. Sesuai dengan penelitian oleh Ko et al. tahun 2025 bahwa perlakuan dengan ekstrak *Centella asiatica* (BT-care) menunjukkan "tren menuju restorasi" pada beberapa penanda antioksidan (seperti SOD1 dan CAT) yang rusak akibat UVB, meskipun pemulihan tersebut "tidak signifikan secara statistik" pada beberapa parameter²³.

Temuan yang paling menarik dan secara klinis relevan adalah respons pada kelompok *Centella asiatica* 10% (K5). Kadar 8-OHdG pada kelompok ini hampir identik dengan kelompok kontrol UVB (K2), dikonfirmasi oleh p-value ($>0,9999$). Implikasi biologisnya sangat signifikan: pada konsentrasi 10%, *Centella asiatica* tidak menunjukkan efek protektif sama sekali terhadap kerusakan DNA oksidatif dalam model ini. Lebih jauh lagi, kadar 8-OHdG pada kelompok K5 secara signifikan lebih tinggi dibandingkan kelompok *Niacinamide* (K3, $p=0,0244$), yang secara definitif menunjukkan inferioritas dosis 10% dalam melindungi DNA. Hasil ini kontras dengan beberapa studi, sesuai dengan penelitian oleh Maramaldi et al. tahun 2013 yang menunjukkan efek protektif DNA dari ekstrak *Centella asiatica*²⁴. Namun, temuan kami mungkin terkait dengan respons bifasik atau hormesis. Sesuai dengan penelitian oleh Calabrese & Baldwin tahun 2003 bahwa konsentrasi yang lebih tinggi justru dapat kehilangan efektivitasnya²⁵.

Pada parameter peroksidasi lipid (MDA), hasil uji *Kruskal-wallis* tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik antar kelompok ($p=0,7923$). Paparan UVB (K2) menunjukkan tren kadar MDA

yang lebih tinggi dibandingkan kelompok sehat (K1). Hal ini sesuai dengan peran UVB dalam memicu stres oksidatif, sesuai dengan penelitian oleh Black tahun 2023 yang mengkonfirmasi hal tersebut ²⁶. Namun, kelompok perlakuan menunjukkan pola yang tidak konsisten. Kelompok *Centella asiatica* 10% (K5) menunjukkan kadar yang lebih rendah secara konsisten dibandingkan K2, membawa kadarnya mendekati level kelompok sehat. Temuan ini, meskipun tidak signifikan secara statistik, sejalan dengan penelitian acuan. Sesuai dengan penelitian oleh Rahmawati YD et al. tahun 2019 bahwa ekstrak 10% juga dilaporkan efektif menurunkan kadar MDA¹³.

Sebaliknya, kelompok *Niacinamide* (K3) dan *Centella asiatica* 5% (K4) hanya menunjukkan kadar yang sedikit lebih rendah dibandingkan K2. Kegagalan proteksi pada dosis 5% (K4) ini, meskipun kontras dengan efektivitas anti-inflamasinya, menegaskan adanya perbedaan mekanisme yang bergantung pada dosis. Sesuai dengan penelitian oleh Ratz-Lyko A et al. tahun 2016 yang juga mencatat efektivitas anti-inflamasi ¹², temuan kami menegaskan adanya mekanisme aksi yang berbeda. Perbandingan langsung antara K4 (efek minimal) dan K5 (tren protektif) memperkuat dugaan, sesuai dengan catatan oleh Rahmawati YD et al. tahun 2019 bahwa efek protektif ini bersifat dose-dependent (bergantung pada dosis) ¹³.

Ketiadaan signifikansi statistik dan pola tren rerata yang tidak konsisten pada parameter MDA ini kemungkinan besar disebabkan oleh variabilitas data yang sangat tinggi yang inheren pada metode pengukuran IHC untuk kuantifikasi MDA. Sesuai dengan penelitian oleh Williams et al.

tahun 2013, yang juga mengkaji penanda peroksidasi lipid setelah paparan UV, kegagalan untuk menemukan signifikansi statistik dalam perbandingan IHC dapat diatribusikan pada "pola pewarnaan yang tidak teratur dan variabilitas intra-lesi." ²². Seperti yang telah didiskusikan sebelumnya, sesuai dengan penelitian oleh Kohale et al. tahun 2023 bahwa metode IHC lebih cocok untuk melihat lokalisasi kerusakan lipid, bukan untuk perbandingan kuantitatif antar kelompok secara presisi ²⁷. Hal ini membuat hasil untuk parameter ini menjadi tidak konklusif dan menegaskan bahwa metode ELISA atau TBARS mungkin lebih superior untuk kuantifikasi penanda seperti MDA.

5.3. Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu dipertimbangkan. Keterbatasan utama terletak pada aspek statistik. Kombinasi ukuran sampel yang kecil ($n=5$) dengan variabilitas data yang tinggi, seperti yang terlihat jelas pada simpangan baku parameter ekspresi MDA, secara signifikan membatasi kekuatan statistik penelitian sehingga meningkatkan risiko *Type II error* (kegagalan mendeteksi efek yang sebenarnya ada). Dari segi desain eksperimental, penggunaan hanya dua konsentrasi (*Centella asiatica* 5% dan 10%) belum cukup untuk memetakan secara detail respons dosis yang bersifat non-linier dan anomali. Hal ini teramati secara kontras pada parameter kadar 8-OHdG, di mana dosis 5% protektif sementara 10% tidak, dan pada ekspresi MDA, di mana justru dosis 10% yang menunjukkan efektivitas tertinggi.

BAB VI

KESIMPULAN

6.1. Kesimpulan

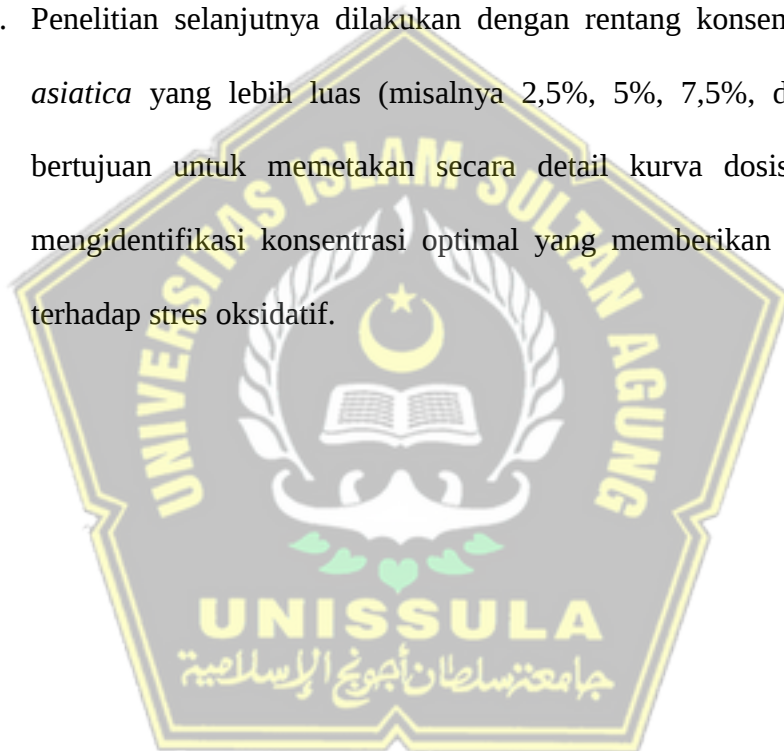
1. Pada parameter ekspresi MDA, krim ekstrak *Centella asiatica* 10% menunjukkan potensi sebagai antioksidan, yang terlihat dari tren ekspresi yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol vehikulum. Sementara itu, krim ekstrak *Centella asiatica* dengan konsentrasi 5% tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik pada ekspresi MDA.
2. Pada parameter kadar 8-OHdG, pemberian krim ekstrak *Centella asiatica* 5% secara topikal menunjukkan potensi kuat sebagai agen protektif, yang tercermin dari rendahnya kadar 8-OHdG secara deskriptif dibandingkan dengan kontrol vehikulum. Sebaliknya, pemberian krim ekstrak *Centella asiatica* dengan konsentrasi 10% tidak menunjukkan efek protektif yang bermakna secara statistik.

6.2. Saran

1. Penelitian selanjutnya wajib menggunakan ukuran sampel yang lebih besar. Penelitian selanjutnya disarankan untuk menambah jumlah sampel (n) per kelompok secara signifikan. Keterbatasan jumlah sampel pada penelitian ini menjadi krusial karena parameter yang diukur adalah ekspresi protein, yang merupakan hasil akhir dari proses sintesis yang dikontrol oleh urutan DNA. Adanya variasi genetik (polimorfisme) antar

individu tikus secara inheren akan menyebabkan variabilitas biologis yang tinggi dalam merespons paparan UVB dan perlakuan yang diberikan. Jumlah sampel yang jauh lebih besar akan sangat membantu dalam mengurangi *noise* statistik dari variasi individu ini, sehingga meningkatkan kekuatan statistik penelitian untuk mendeteksi perbedaan yang sesungguhnya (signifikan) antar kelompok.

2. Penelitian selanjutnya dilakukan dengan rentang konsentrasi *Centella asiatica* yang lebih luas (misalnya 2,5%, 5%, 7,5%, dan 10%). Ini bertujuan untuk memetakan secara detail kurva dosis-respons dan mengidentifikasi konsentrasi optimal yang memberikan efek protektif terhadap stres oksidatif.



DAFTAR PUSTAKA

1. Krutmann J, Bouloc A, Sore G, Bernard BA, Passeron T. The skin aging exposome. *J Dermatol Sci.* 2017;85(3):152-61. doi:10.1016/j.jdermsci.2016.09.015.
2. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis K, Loridas S. Pulmonary oxidative stress, inflammation and cancer: respirable particulate matter, fibrous dusts and ozone as major causes of lung carcinogenesis through reactive oxygen species mechanisms. *Int J Environ Res Public Health.* 2013 Aug 27;10(9):3886-907. doi: 10.3390/ijerph10093886.
3. Shen N, Yan F, Lü S, Yang W, Luo G, Yan G, *et al.* Gene manipulation based selenium-containing peptide exhibiting synergism of SOD and GPx. *Chem Res Chin Univ.* 2014;30(6):947–52. <https://doi.org/10.1007/S40242-014-4239-Z>
4. Orhan IE. *Centella asiatica* (L.) Urban: From traditional medicine to modern medicine with neuroprotective potential. *Phytotherapy Research.* 2012;26(3):318-24.
5. Huang H, Weng H, Sun W, Qin X, Shi H, Wu H, *et al.* Recognition of RNA N6-methyladenosine by IGF2BP proteins enhances mRNA stability and translation. *Nat Cell Biol.* 2018 Mar;20(3):285-295.
6. Kim SJ, *et al.* Protective effects of *Centella asiatica* (L.) Urban on UVB-induced *photoaging* in human dermal fibroblasts. *Int J Mol Med.* 2017.
7. Gohil KJ, Patel JA, Gajjar AK. Pharmacological review on *Centella asiatica*: a potential herbal cure-all. *Indian J Pharm Sci.* 2010;72(5):546-56. doi: 10.4103/0250-474X.78519.
8. Lim J., Lee H., Hong S., Lee J., Kim Y. “*Comparison of the Antioxidant Potency of Four Triterpenes of Centella asiatica against Oxidative Stress.*” *Antioxidants.* 2024; 13 (4): 483. doi:10.3390/antiox13040483
9. Azeez RM, Al-Hashemi WK, Al-Auqbi TFR, Jebali J. Relation of MDA as Oxidative Stress Marker with Lipid Profile in a Diabetic Patient. *Mağallat Ğāmi‘at Al-Nahrayn.* 2023. doi:10.22401/anjs.26.3.03
10. Singh LJ, Sane A, Thuppil VK. Assessment of morphological characterization and genetic variability of Mandukaparni (*Centella asiatica* L.) accessions. *Indian J Plant Genet Resour.* 2022;35(2):189–93. <https://doi.org/10.5958/0976-1926.2022.00020.1>

11. Najafi K, Ahmadi S, Rahpeyma M, Khazaie H, Vaisi-Raygani A, Moini A, Kiani A. Study of Serum Malondialdehyde Level in Opioid and Methamphetamine Dependent Patients. *Acta Med Iran*. 2017;55(10):616–20.
12. Kumar A, Sinha R. Elevated lipid peroxidants in breast cancer patients. Available from: <http://www.iosrjournals.org/iosr-jpbs/papers/Vol9-issue4/Version-5/D09451721.pdf>.
13. Yates SA. The Cytotoxic Effects of Malondialdehyde on Human Lung Fibroblast Cells. 2015. <https://doi.org/10.24377/LJMU.T.00004529>
14. Catalá A, Díaz M. Impact of Lipid Peroxidation on the Physiology and Pathophysiology of Cell Membranes. *Front Physiol*. 2016;7:423. doi:10.3389/FPHYS.2016.00423
15. Muthuraman A, Rishitha N, Paramakrishnan N, Mahendran B, Ramesh M. Role of Lipid Peroxidation Process in Neurodegenerative Disorders. 2019. doi:10.5772/INTECHOPEN.81188.
16. Rinnerthaler M, Bischof J, Streubel MK, Trost A, Richter K. Oxidative stress in aging human skin. *Biomolecules*. 2015 Mar 31;5(2):545-89. doi: 10.3390/biom5020545. PMID: 25906193.
17. Quan, T., Qin, Z., Xia, W., Shao, Y., Voorhees, J. J., & Fisher, G. J. (2009). Matrix-degrading metalloproteinases in *photoaging*. *Journal of Investigative Dermatology*, 129(4), 793–803. Poljšak, B., & Dahmane, R. (2012). Free radicals and extrinsic skin aging. *Dermatology Research and Practice*, 2012, 135206. Zhao
18. Poljšak, B., & Dahmane, R. (2012). Free radicals and extrinsic skin aging. *Dermatology Research and Practice*, 2012, 135206. Ni J, Wang Y, Zhao Q, Xu X, Gu H, Cheng X, *et al*. 8-OHdG repair is associated with platinum sensitivity in high-grade serous ovarian carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2021;42(2):254–64. <https://doi.org/10.31083/J.EJGO.2021.02.2105>
19. Zhao, H., Wu, L., Yan, G., Chen, Y., Zhou, M., Wu, Y., & Li, Y. (2021). Inhibition of lipid peroxidation in UV-induced skin damage by antioxidants: A review. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 223, 112285.
20. Wang XJ, Li B, Gao JY, Wang K, Yang SM, *et al*. The OGG1 Ser326Cys polymorphism: molecular mechanisms of disease susceptibility and precision medicine applications. *Clin Epigenetics*. 2025;17:153. doi:10.1186/s13148-025-01978-x
21. Ni J, Wang Y, Zhao Q, Xu X, Gu H, Cheng X, Zhou R, Li Y, Guo W, Chen X. 8-OHdG repair is associated with platinum sensitivity in high-grade serous

- ovarian carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2021;42(2):254–64. doi:10.31083/J.EJGO.2021.02.2105.
22. Kang M, Park S, Nam S, Chung J-W, Kim KO, An J, *et al.* Significance of 8-OHdG Expression as a Predictor of Survival in Colorectal Cancer. *Cancers.* 2023. doi:10.3390/cancers15184613.
 23. Orfanakos K, Alifieris C, Verigos EK, Deligiorgi MV, Verigos KE, Panayiotidis MI, *et al.* The predictive value of 8-hydroxy-deoxyguanosine (8-OHdG) serum concentrations in irradiated non-small cell lung carcinoma (NSCLC) patients. *Biomedicines.* 2024. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12010134>
 24. Obermann T, Sakshaug T, Kanagaraj VV, Abentung A, Sarno A, Bjørås M, *et al.* Genomic 8-oxoguanine modulates gene transcription independent of its repair by DNA glycosylases OGG1 and MUTYH. *BioRxiv.* 2024. <https://doi.org/10.1101/2024.02.20.581185>
 25. Çelik HEA, Tuna G, Ceylan D, Küçükgöncü S. A comparative meta-analysis of peripheral 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) or 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxo-dG) levels across mood episodes in bipolar disorder. *Psychoneuroendocrinology.* 2023;151:106078. doi:10.1016/j.psyneuen.2023.106078
 26. Jung T, Findik N, Hartmann B, Hanack K, Großmann K, Roggenbuck D, *et al.* Automated determination of 8-OHdG in cells and tissue via immunofluorescence using a specially created antibody. *Biotechnol Rep.* 2024;42:e00833. doi:10.1016/j.btre.2024.e00833.
 27. Qadarsih S, Zainuddin A, Yustisia I, Astuti NM, Idris I, Santoso A. 8-hydroxy-deoxyguanosine (8-OHdG) urine as a biomarker of oxidative damage in late elderly diabetes mellitus. *Int J Health Sci.* 2022;6(Suppl 6):2316–27. <https://doi.org/10.53730/ijhs.v6ns6.9983>
 28. Nakabeppu, Y., Sakumi, K., Sakamoto, K., Tsuchimoto, D., Tsuzuki, T., & Goto, M. (2021). DNA damage and repair in neurodegeneration: Implications for anti-aging strategies. *Mechanisms of Ageing and Development*, 192, 111390
 29. Shindo, Y., Witt, E., Han, D., Epstein, W., & Packer, L. (2015). Enzymic and non-enzymic antioxidants in epidermis and dermis of human skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 102(1), 122–124.
 30. Lu, C. Y., Lee, H. C., Fahn, H. J., & Wei, Y. H. (2017). Oxidative damage elicited by imbalance of free radical scavenging enzymes is associated with large-scale mtDNA deletions in aging human skin. *Mutation Research*, 617(1-2), 37–45.

31. Kasai, H. (2020). What causes human cancer? Approaches from the chemistry of DNA damage. *Genes and Environment*, 42(1), 28.
32. Ichihashi, M., Ando, H., Yoshida, M., Niki, Y., Matsui, M., & Takayama, K. (2017). UV-induced skin damage. *Toxicology Research*, 6(6), 521–533.
33. Soundharaj S, Ramachandran M, Sivaji C. The role of ultraviolet radiation in human race. 2022;1(2):48–56. <https://doi.org/10.46632/ese/1/2/1>
34. Salucci S, Burattini S, Battistelli M, Baldassarri V, Maltarello MC, Falcieri E. Ultraviolet B (UVB) irradiation-induced apoptosis in various cell lineages *in vitro*. *Int J Mol Sci*. 2012;14(1):532–46. <https://doi.org/10.3390/IJMS14010532>
35. Travers JB, Berry D, Yao Y, Yi Q, Konger RL, Travers JB. Ultraviolet B radiation of human skin generates platelet-activating factor receptor agonists. *Photochem Photobiol*. 2010;86(4):949–54. <https://doi.org/10.1111/J.1751-1097.2010.00743.X>
36. Fahy KE, Liu L, Rapp CM, *et al*. UVB-generated Microvesicle Particles: A Novel Pathway by Which a Skin-specific Stimulus Could Exert Systemic Effects. *Photochem Photobiol*. 2017;93(4):937–942. doi:10.1111/PHP.12703
37. Frommeyer TC, Gilbert MM, Brittain GV, *et al*. UVB-Induced Microvesicle Particle Release and Its Effects on the Cutaneous Microenvironment. *Front Immunol*. 2022;13. doi:10.3389/fimmu.2022.880850
38. Isnaini I, Oktaviyanti IK, Suhartono E. The effect of long exposure of UV radiation on erythema and melanin index. *Berk Kedokteran*. 2022;18(1):117. doi:10.20527/jbk.v18i1.11829.
39. Pavel IZ, Iftode OA, Pinzaru I, Coricovac D, Moaca A, Farcas C, Simu S, Soica C, Dehelean C, Motoc A. Skin specific cells and UVB damage: an experimental assessment. *Rev Chim*. 2017;68(6):1229–33. doi:10.37358/RC.17.6.5647.
40. Neale RE, Lucas RM, Byrne SN, Hollestein LM, Rhodes LE, Yazar S, *et al*. The effects of exposure to solar radiation on human health. *Photochem Photobiol Sci*. 2023;22(5):1–37. doi:10.1007/s43630-023-00375-8.
41. Rolfes K, Pollet M, Krutmann J, Haarmann-Stemmann T. Impact of low dose UVA radiation on UVB radiation-induced DNA damage and skin carcinogenesis. *J Invest Dermatol*. 2023;143(5 Suppl):S201. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2023.03.1188>
42. Charoenchon N, Rhodes LE, Pilkington SM, Farrar MD, Watson REB. Differential reorganisation of cutaneous elastic fibres: a comparison of the *in*

- vivo* effects of broadband ultraviolet B versus solar simulated radiation. *Photochem Photobiol Sci.* 2018;17(7):889–895. doi:10.1039/C7PP00412E
43. Herrling T, Sandig G, Seifert M, Jung K. Clinical and experimental *in vivo* EPR for the detection of free radicals in dermatology.
 44. Terra VA, de Souza-Neto FP, Pereira RC, Silva TNX, Costa ACC, Luiz RC, *et al.* Time-dependent reactive species formation and oxidative stress damage in the skin after UVB irradiation. *J Photochem Photobiol B.* 2012;109:34–41. <https://doi.org/10.1016/J.JPHOTOBIOB.2012.01.003>
 45. Lohan SB, Ivanov D, Schüler N, Berger B, Zastrow L, Lademann J, Meinke MC. Switching from healthy to unhealthy oxidative stress - does the radical type can be used as an indicator? *Free Radic Biol Med.* 2021;162:401–11. doi:10.1016/J.FREERADBIOMED.2020.10.319.
 46. Meinke MC, Busch L, Busch L, Lohan SB. Wavelength, dose, skin type and skin model related radical formation in skin. *Biophys Rev.* 2021;1–10. doi:10.1007/S12551-021-00863-0.
 47. De Jager TL, Cockrell AE, Plessis SS Du. Ultraviolet Light Induced Generation of Reactive Oxygen Species. In: *Adv Exp Med Biol.* Vol 996. 2017. p. 15–23. doi:10.1007/978-3-319-56017-5_2
 48. Wu S, Wang L, Jacoby AM, Jasinski K, Kubant R, Malinski T. Ultraviolet B light-induced nitric oxide/peroxynitrite imbalance in keratinocytes—implications for apoptosis and necrosis. *Photochem Photobiol.* 2010;86(2):389–96. <https://doi.org/10.1111/J.1751-1097.2009.00682.X>
 49. Melo CPB, Saito P, Martinez RM, Staurengo-Ferrari L, Pinto IC, Rodrigues CCA, *et al.* Aspirin-Triggered Resolvin D1 (AT-RvD1) Protects Mouse Skin against UVB-Induced Inflammation and Oxidative Stress. *Molecules.* 2023;28(5):2417. doi:10.3390/molecules28052417.
 50. Gęgotek A, Bielawska K, Biernacki M, *et al.* Comparison of protective effect of ascorbic acid on redox and endocannabinoid systems interactions in *in vitro* cultured human skin fibroblasts exposed to UV radiation and hydrogen peroxide. *Arch Dermatol Res.* 2017;309(4):285–303. doi:10.1007/s00403-017-1729-0
 51. Saguet T, Robin S, Nicod L, Binda D, Viennet C, Aubin F, *et al.* Comparison of ultraviolet B-induced imbalance of antioxidant status in foreskin- and abdominal skin-derived human fibroblasts. *Eur J Dermatol.* 2006;16(4):368–74.
 52. Maruzy A, Susandarini R. Intraspecific Variability and Phenetic Relationships of *Centella asiatica* (L.) Urb. Accessions from Central Java

- Based on Morphological Characters. *J Trop Biodivers Biotechnol*. 2024;9(1):86477. doi:10.22146/jtbb.86477.
53. Singh Z, Karthigesu IP, Singh P, Kaur R. Use of malondialdehyde as a biomarker for assessing oxidative stress in different disease pathologies: a review. *Iran J Public Health*. 2014;43(3):7–16. <https://ijph.tums.ac.ir/index.php/ijph/article/download/4858/4450>
 54. Lee K-H, Yu K-W, Bae Y-J, Kim C-Y, Joo G-Y, Yun J-H. Quality Characteristics of *Centella asiatica* Species and Antioxidant Activities of Solvent Extracts. *Korean J Food Nutr*. 2021;34(3):255–62. doi:10.9799/KSFAN.2021.34.3.255.
 55. Wankhade AM, Rahangdale PC. A review on *Centella asiatica*: a potential herbal cure. *Res J Pharmacogn Phytochem*. 2023:235–40. <https://doi.org/10.52711/0975-4385.2023.00037>
 56. Borges ALS, Bittar VP, Justino AB, *et al*. Exploring the Composition and Properties of *Centella asiatica* Metabolites and Investigating Their Impact on BSA Glycation, LDL Oxidation, and α -Amylase Inhibition. *J Pharm Biomed Anal*. 2024. doi:10.1016/j.jpba.2024.116143
 57. Fernenda L, Ramadhani AP, Syukri Y. Aktivitas pegagan (*Centella asiatica*) pada dermatologi. *J Sains Farm Klin*. 2023;9(3):237–244. doi:10.25077/jsfk.9.3.237-244.2022
 58. Bansal K, Bhati H, Vanshita, Bajpai M. Recent Insights into Therapeutic Potential and Nanostructured Carrier Systems of *Centella asiatica*: An Evidence-Based Review. *Pharmacol Res*. 2024;100403. doi:10.1016/j.prmcm.2024.100403
 59. Samuel K, Medikeri A, Pasha T, Ansari MF, Saudagar A. *Centella asiatica*: a traditional herbal medicine. *World J Adv Res Rev*. 2022;15(1):512–24. <https://doi.org/10.30574/wjarr.2022.15.1.0726>
 60. Seong E-M, Heo H, Jeong H-S, Lee H, Lee J. Enhancement of bioactive compounds and biological activities of *Centella asiatica* through ultrasound treatment. *Ultrason Sonochem*. 2023;94:106353. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106353>
 61. Diniz LRL, Calado LL, Duarte ABS, de Sousa DP. *Centella asiatica* and Its Metabolite Asiatic Acid: Wound Healing Effects and Therapeutic Potential. *Metabolites*. 2023;13(2):276. doi:10.3390/metabo13020276
 62. Rahangdale L, Teodoro N, Chinula L, Brewer NT. Eliminating cervical cancer as a global public health problem requires equitable action. *BMJ*. 2023;383:p2978

63. Thao TTP, Pham NTK, Nguyen N, Tran LV, Nguyen LT, Nguyen DT, *et al.* Comparison of organic and conventional production methods in accumulation of biomass and bioactive compounds in *Centella asiatica* (L.) Urban. 2023. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv-2023-q9vvc>
64. Lim J, Lee H, Hong S, Lee J, Kim Y. Comparison of the Antioxidant Potency of Four Triterpenes of *Centella asiatica* against Oxidative Stress. *Antioxidants*. 2024. doi:10.3390/antiox13040483.
65. Legiawati L, Fadilah F, Bramono K, Pratama AI. In Silico Study of *Centella asiatica* Derivatives as Antioxidant: Enhancer of Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase Activity. *Res J Pharm Technol*. 2023;399–403. doi:10.52711/0974-360x.2023.00068.
66. Firdaus Z, Gutti G, Ganeshpurkar A, *et al.* *Centella asiatica* improves memory and executive function in middle-aged rats by controlling oxidative stress and cholinergic transmission. *J Ethnopharmacol*. 2024;117888. doi:10.1016/j.jep.2024.117888
67. Mansor NI, Ling KH, Rosli R, Hassan Z, Adenan MI, Nordin N. *Centella asiatica* (L.) Urban. Attenuates Cell Damage in Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Stress in Transgenic Murine Embryonic Stem Cell Line-Derived Neural-Like Cells: A Preliminary Study for Potential Treatment of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*. 2023. doi:10.3233/JAD-221233.
68. Nomi AG, Handayani HY, Khuluk RH, Karomah AH, Wulansari L, Yuliana ND, *et al.* Antioxidant activity and metabolite changes in *Centella asiatica* with different drying methods using FTIR- and quantitative HPLC-based metabolomics. *Int Food Res J*. 2024;31(1):228–38. <https://doi.org/10.47836/ifrj.31.1.20>
69. Goldstone RJ. Development of *Centella asiatica* beverages with potential antioxidant and prebiotic activity for maintaining intestinal health. *Food Biosci*. 2023;53:102751. doi:10.1016/j.fbio.2023.102751
70. Kundu P, Yasuhara K, Brandes MS, Zweig JA, Neff CJ, Holden S, *et al.* *Centella asiatica* promotes antioxidant gene expression and mitochondrial oxidative respiration in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Res Square*. 2023. doi:10.21203/rs.3.rs-3393042/v1.
71. Das S, Das BK. Antioxidant Activity of *Centella asiatica* Leaves by DPPH Radical Scavenging Method. 2023. doi:10.53555/sfs.v10i1.1529
72. Surjana D, Halliday GM, Damian DL. Role of Nicotinamide in DNA Damage, Mutagenesis, and DNA Repair. *J Nucleic Acids*. 2010 Jan 25;2010(1).

73. García M, Llames S, García E, Meana A, Cuadrado N, Recasens M, *et al.* *In vivo* Assessment of Acute UVB Responses in Normal and Xeroderma Pigmentosum (XP-C) Skin-Humanized Mouse Models. *Am J Pathol.* 2010 Aug;177(2):865–72.
74. Gyöngyösi N, Lőrincz K, Keszeg A, Haluszká D, Bánvölgyi A, Tátrai E, *et al.* Photosensitivity of murine skin greatly depends on the genetic background: clinically relevant dose as a new measure to replace minimal erythema dose in mouse studies. *Exp Dermatol.* 2016 Jul 20;25(7):519–25.
75. Altman AM, Bankson J, Matthias N, Vykoukal J V., Song YH, Alt EU. Magnetic resonance imaging as a novel method of characterization of cutaneous *photoaging* in a murine model. *Arch Dermatol Res.* 2008 Jun 28;300(5):263–7.
76. Rahmawati YD, Aulanni'am A, Prasetyawan S. Effects of Oral and Topical Application of *Centella asiatica* Extracts on the UVB-Induced *Photoaging* of Hairless Rats. *The Journal of Pure and Applied Chemistry Research.* 2019;
77. Ratz-Łyko A, Arct J, Pytkowska K. Moisturizing and Antiinflammatory Properties of Cosmetic Formulations Containing *Centella asiatica* Extract. *Indian J Pharm Sci.* 2016;
78. Uchida Y, Ferdousi F, Takahashi S, Isoda H. Comprehensive transcriptome profiling of antioxidant activities by glutathione in human HepG2 cells. *Molecules.* 2024;29. <https://doi.org/10.3390/molecules29051090>
79. Choudhary V, Darwiche R, Gfeller D, Zoete V, Michielin O, Schneider R. The caveolin-binding motif of the CAP/SCP domain mediates the import of fungal CAP proteins into lipid droplets. *J Cell Sci.* 2014;127(Pt 21):4903-17. doi:10.1242/jcs.157362.
80. Johann DJ, Shin IJ, Roberge A, Laun S, Peterson EA, Liu M, *et al.* Effect of Antigen Retrieval on Genomic DNA From Immunodissected Samples. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry.* 2022 Sep 21;70(9):643–58.
81. Cizkova K, Flodrova P, Baranova R, Malohlava J, Lacey M, Tauber Z. Beneficial Effect of Heat-induced Antigen Retrieval in Immunocytochemical Detection of Intracellular Antigens in Alcohol-fixed Cell Samples. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology.* 2020 Feb;28(2):166–74.
82. Guerin CJ. Using Antibodies in Microscopy: A Guide to Immunohistochemistry. Part 2: IHC Staining Protocols. *Micros Today.* 2023 May 31;31(3):34–9.
83. Oumarou Hama H, Aboudharam G, Barbieri R, Lepidi H, Drancourt M. Immunohistochemical diagnosis of human infectious diseases: a review. *Diagn Pathol.* 2022 Dec 30;17(1):17.