

**PENGARUH GEL EKSTRAK TAPAK DARA  
(*Catharanthus roseus*) TERHADAP DENSITAS  
KOLAGEN DAN KADAR IL 10**

**(Studi eksperimental pada mencit C57BL/6 pasca terpapar  
sinar UV-B secara sub kronik)**

**Tesis**

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat  
Magister (S2)**



**Magister Ilmu Biomedik**

**Vidya Ekaningtyas  
MBK2322010420**

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

**TESIS**  
**PENGARUH GEL EKSTRAK TAPAK DARA**  
**(*Catharanthus roseus*) TERHADAP DENSITAS**  
**KOLAGEN DAN KADAR IL 10**  
**(Studi eksperimental pada mencit C57BL/6 pasca terpapar**  
**sinar UV-B secara sub kronik)**

Disusun oleh:

**Vidya Ekaningtyas**

**MBK2322010420**

Akan dipertahankan didepan Tim Penguji  
November 2025  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima  
Menyetujui:

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr.dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes  
NIK: 0616116601

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

Mengetahui,

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

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

## RIWAYAT HIDUP

- **Identitas**

Nama : Vidya Ekaningtyas  
Tempat / tanggal lahir : Banyumas, 8 Oktober 1986  
Agama : Islam  
Jenis Kelamin : Perempuan

- **Riwayat Pendidikan**

SDN : Lulus tahun 1998  
SMPN : Lulus tahun 2001  
SMA : Lulus tahun 2004  
S1 : Lulus tahun 2008  
Profesi Dokter : Lulus tahun 2010  
Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : (2023 – sekarang)

- **Riwayat Pekerjaan:**

Natasha Skin Clinic Centre 2011-2016  
Erha Apothecary : 2016- sekarang

- **Riwayat keluarga**

Nama Suami : Kardi  
Nama Anak : Ananda Rayka Mufid, Alvaro Vidi Nugroho, Vania Izzatunnisa Azahra

- **Orang tua**

Nama Bapak : Sigit Wibowo DN  
Nama Ibu : Titi Nurfitri

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul, Pengaruh gel ekstrak *Catharanthus roseus* terhadap densitas kolagen dan kadar IL-10 (Studi eksperimental pada mencit C57BL/6 pasca terpapar sinar UVB secara sub kronik). Tesis ini disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Magister Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, penulis ingin mengucapkan terimakasih, yakni kepada yang terhormat:

1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH., M.Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung beserta para wakil rektor yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh dan menyelesaikan Pendidikan Magister Ilmu Biomedik.
2. Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H, Sp.KF selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung dan juga selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan arahan serta memberikan kesempatan untuk mengikuti pendidikan di program Magister Ilmu Biomedik.
3. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp. B., FINACS selaku ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik dan selaku penguji I yang memberi bimbingan masukan penyusun selama penyusunan tesis ini.
4. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes selaku pembimbing I yang juga telah meluangkan banyak waktu, memberikan dorongan semangat bimbingan serta masukan selama penyusunan tesis ini.
5. Dr. dr. Chodidjah, M.Kes selaku penguji II yang memberikan banyak perhatian, kritik, serta saran selama penyusunan tesis ini.

6. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp.D.V.E, Subsp.D.K.E, FINSADV, FAADV selaku penguji III yang memberikan banyak masukan, kritik, serta saran selama penyusunan tesis ini.
7. Dosen pengajar dan rekan – rekan staf Magister Ilmu Biomedik yang tidak dapat disebutkan satu – satu yang telah memberikan doa dan dorongan kepada penyusun.
8. Keluarga yang selalu mendukung selama Pendidikan dan penelitian ini berlangsung. Penulis berharap semoga tesis ini bisa menjadi bahan informasi dan memberikan manfaat bagi penyusun pribadi, bagi Program Pendidikan Magister Program Studi Ilmu Biomedik serta bagi pihak-pihak lain yang berkepentingan secara luas bagi kalangan ilmu di bidang kedokteran.

Akhir kata semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan berkah dan rahmatnya kepada kita semua, aamiin.

Semarang, Oktober 2025

(Vidya Ekaningtyas)

## DAFTAR ISI

	Halaman
TESIS .....	ii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI .....	vi
DAFTAR ISTILAH .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xii
ABSTRAK .....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis.....	4
1.5 Originalitas Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Kolagen .....	9
2.1.1 Definisi .....	9
2.1.2 Densitas Kolagen.....	10
2.2 <i>Interleukin-10</i> (IL-10) .....	12
2.2.1. Definisi .....	12
2.2.2. Aktivasi IL-10.....	13
2.2.2. Faktor yang mempengaruhi ekspresi IL-10.....	15
2.3 <i>Catharanthus roseus</i> (Tapak Dara).....	16
2.4 <i>Photoaging</i> .....	18
2.5 Paparan sinar ultraviolet B (UVB) .....	20

2.6 Pengaruh Gel ekstrak <i>Catharanthus roseus</i> terhadap densitas kolagen dan kadar IL-10 akibat paparan sinar UV-B sub kronis.....	23
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS .....	27
3.1 Kerangka Teori .....	27
3.2 Kerangka Konsep .....	31
3.3 Hipotesis.....	31
BAB IV METODE PENELITIAN.....	32
4.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	32
4.2 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	33
4.2.1 Variabel Bebas.....	33
4.2.2 Variabel Terikat.....	33
4.2.3 Variabel Prakondisi .....	33
4.3 Definisi Operasional.....	33
4.4 Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian .....	34
4.5 Teknik Pengambilan Sampel Penelitian.....	35
4.6 Besar sampel.....	35
4.7 Alat dan Bahan.....	36
4.7.1 Alat .....	36
4.7.2 Bahan.....	36
4.8 Cara Penelitian dan Alur Kerja.....	37
4.8.1 Perolehan <i>Ethical Clearance</i> .....	37
4.8.2 Pembuatan Ekstrak <i>Catharanthus roseus</i> .....	37
4.8.3 Pembuatan Sediaan Gel Ekstrak <i>Catharanthus roseus</i> .....	38
4.8.4 Persiapan Hewan Uji .....	38
4.8.5 Paparan UV-B sub kronik.....	39
4.8.6 Prosedur Pengambilan Serum Darah Mencit.....	39
4.8.6 Pengambilan Sampel Jaringan Kulit Mencit.....	41
4.8.7 Prosedur Analisis Densitas Kolagen.....	41
4.8.8 Analisis kadar IL-10 serum mencit dengan Metode ELISA.....	44
4.9 Tempat dan Waktu Penelitian.....	45
4.10 Analisa Data .....	46
4.11 Alur Penelitian.....	47



BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....	48
5.1 Hasil Penelitian.....	48
5.1.1 Hasil pemeriksaan Mikroskopis Densitas kolagen jaringan kulit dengan pewarnaan <i>Masson's Trichrome</i> .....	49
5.1.2 Hasil pemeriksaan Kadar IL-10 serum darah mencit setelah hari ke 14 perlakuan .....	53
5.2 Pembahasan.....	56
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN .....	62
6.1. Kesimpulan.....	62
6.2. Saran.....	62
DAFTAR PUSTAKA.....	63
LAMPIRAN .....	73
1. Lampiran <i>Echical Clearance</i> .....	73
2. Lampiran Surat Keterangan Penelitian.....	74
3. Hasil Result Mouse IL10 ELISA .....	75
4. Hasil Pewarnaan Densitas Kolagen <i>Masson Trichrom</i> .....	76
5. Dokumentasi Penelitian.....	78
6. Hasil Statistik SPSS Kadar IL-10.....	81
7. Hasil Statistik SPSS Densitas Kolagen.....	83



## DAFTAR ISTILAH

AgNPs	: Silver Nanoparticles
APCs	: Antigen Presenting Cells
BMP1	: Bone Morphogenetic Protein 1
COX	: Cyclooxygenase
CREB - cAMP	: Response Element-Binding Protein
DAMPs	: Damage-Associated Molecular Patterns
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
ECM	: Extracellular Matrix
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ERK	: Extracellular Signal-Regulated Kinase
GPx	: Glutathione Peroxidase
IL-1 $\beta$	: Interleukin-1 Beta
IL-6	: Interleukin-6
IL-10	: Interleukin-10
IL-12	: Interleukin-12
IL-19	: Interleukin-19
IL-20	: Interleukin-20
IL-22	: Interleukin-22
IL-24	: Interleukin-24
IL-26	: Interleukin-26
JNK	: c-Jun N-terminal Kinase
LOX	: Lipoxygenase
MAPK	: Mitogen-Activated Protein Kinase
MHC	: Major Histocompatibility Complex
MMP	: Matrix Metalloproteinase
NF-K $\beta$	: Nuclear Factor kappa-beta
PAMPs	: Pathogen-Associated Molecular Patterns
PRRs	: Pattern Recognition Receptors
RER	: Rough Endoplasmic Reticulum

ROS	: Reactive Oxygen Species
SP1	: Specificity Protein 1
SPF	: Sun Protection Factor
STAT3	: Signal Transducer and Activator of Transcription 3
TGF- $\beta$	: Transforming Growth Factor Beta
TLRs	: Toll-Like Receptors
TNF- $\alpha$	: Tumor Necrosis Factor Alpha
UV-B	: Ultraviolet B
WBC	: White Blood Cells



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 3.1 Kerangka teori.....	30
Gambar 3.2 Kerangka konsep.....	31
Gambar 4.1 Skema rancangan penelitian.....	32
Gambar 4.2 Skema alur penelitian.....	47
Gambar 5.1 Histologi densitas kolagen dengan pewarnaan <i>Masson Tricrome</i> pada tiap kelompok .....	49
Gambar 5.2 Grafik rerata densitas kolagen (%) tiap kelompok.....	51
Gambar 5.3 Grafik rerata Kadar IL-10 (pg/mL) tiap kelompok.....	54



## DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas penelitian.....	5
Tabel 5.1 Hasil uji deskriptif rerata densitas kolagen (%) dan uji <i>One way Anova</i> setelah hari ke 14 perlakuan .....	50
Tabel 5.2 Uji <i>Mann Whitney</i> terhadap densitas kolagen (%) pada tiap kelompok	52
Tabel 5. 3 Uji <i>Posh Hoc LSD</i> Kadar IL-10 (pg/mL) pada tiap kelompok.....	55



## ABSTRAK

**Latar belakang:** Paparan ultraviolet-B (UV-B) subkronik merupakan salah satu faktor utama yang mempercepat proses fotoaging melalui peningkatan stres oksidatif, penurunan kadar Interleukin-10 (IL-10), dan kerusakan struktur kolagen dermis. *Catharanthus roseus* mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, dan saponin yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan menilai efektivitas gel ekstrak *C. roseus* dalam meningkatkan kadar IL-10 dan memperbaiki densitas kolagen pada kulit mencit C57BL/6 setelah paparan UV-B.

**Metode:** Sebanyak 30 mencit dibagi menjadi lima kelompok: K1 (kontrol sehat), K2 (UV-B + basis gel), K3 (UV-B + vitamin E), K4 (UV-B + gel *C. roseus* 15%), dan K5 (UV-B + gel *C. roseus* 30%). Paparan UV-B diberikan selama 14 hari, kemudian sampel jaringan dianalisis. Kadar IL-10 diukur menggunakan ELISA, sementara densitas kolagen dievaluasi melalui pewarnaan Masson's Trichrome dan analisis ImageJ pada lima lapangan pandang.

**Hasil:** Penelitian menunjukkan perbedaan bermakna kadar IL-10 antar kelompok (ANOVA,  $p=0,000$ ). Rerata  $\pm$  SD IL-10 berturut-turut adalah K1:  $73,46 \pm 5,68$ ; K2:  $19,71 \pm 8,14$ ; K3:  $27,06 \pm 6,70$ ; K4:  $57,62 \pm 13,01$ ; K5:  $63,40 \pm 6,09$  pg/mL. Analisis densitas kolagen juga menunjukkan perbedaan signifikan (Kruskal–Wallis,  $p=0,005$ ), dengan nilai rerata  $\pm$  SD K1:  $82,15 \pm 1,66$ ; K2:  $45,47 \pm 11,35$ ; K3:  $53,15 \pm 8,38$ ; K4:  $64,35 \pm 1,99$ ; K5:  $69,80 \pm 8,90\%$ .

**Kesimpulan:** Gel ekstrak *Catharanthus roseus* terbukti meningkatkan IL-10 dan memperbaiki densitas kolagen secara signifikan. Konsentrasi 30% menunjukkan efek yang paling optimal sebagai agen fotoprotektif dan reparatif terhadap kerusakan kulit akibat paparan UV-B, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai sediaan topikal untuk pencegahan fotoaging dan mempercepat pemulihan integritas kulit pada aplikasi klinis.

**Kata kunci:** *Catharanthus roseus*, IL-10, kolagen, UV-B, antiinflamasi, fotoprotektif.

## ABSTRACT

**Background:** Subchronic exposure to ultraviolet-B (UV-B) is a major factor that accelerates photoaging by increasing oxidative stress, reducing Interleukin-10 (IL-10) levels, and damaging dermal collagen structures. *Catharanthus roseus* contains bioactive compounds such as flavonoids, alkaloids, and saponins, which are known for their antioxidant and anti-inflammatory activities. This study aimed to evaluate the effectiveness of *C. roseus* extract gel in increasing IL-10 levels and improving collagen density in the skin of C57BL/6 mice following UV-B exposure.

**Methods:** A total of 30 mice were divided into five groups: K1 (healthy control), K2 (UV-B + gel base), K3 (UV-B + vitamin E), K4 (UV-B + *C. roseus* gel 15%), and K5 (UV-B + *C. roseus* gel 30%). UV-B exposure was administered for 14 days, followed by tissue sampling. IL-10 levels were measured using ELISA, while collagen density was evaluated through Masson's Trichrome staining and ImageJ analysis across five representative fields of view.

**Results:** The study demonstrated significant differences in IL-10 levels among the groups (ANOVA,  $p = 0.000$ ). The mean  $\pm$  SD IL-10 levels were K1:  $73.46 \pm 5.68$ ; K2:  $19.71 \pm 8.14$ ; K3:  $27.06 \pm 6.70$ ; K4:  $57.62 \pm 13.01$ ; and K5:  $63.40 \pm 6.09$  pg/mL. Collagen density also differed significantly between groups (Kruskal–Wallis,  $p = 0.005$ ), with mean  $\pm$  SD values of K1:  $82.15 \pm 1.66\%$ ; K2:  $45.47 \pm 11.35\%$ ; K3:  $53.15 \pm 8.38\%$ ; K4:  $64.35 \pm 1.99\%$ ; and K5:  $69.80 \pm 8.90\%$ .

**Conclusion:** *Catharanthus roseus* extract gel effectively increased IL-10 levels and significantly improved collagen density. The 30% concentration demonstrated the most optimal photoprotective and reparative effects against UV-B-induced skin damage, indicating its potential development as a topical agent for photoaging prevention and enhancement of skin integrity in clinical applications.

**Keywords:** *Catharanthus roseus*, IL-10, collagen, UV-B, anti-inflammatory, photoprotective.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Paparan UV-B subkronis menimbulkan kerusakan struktural dan fungsional pada kulit secara progresif, meningkatkan *reactive oxygen species* (ROS) dan aktivasi *matriks metaloproteinase* (MMP) di kulit, yang mempercepat degradasi dan menghambat sintesis kolagen, sehingga menurunkan densitas kolagen di dermis.<sup>1</sup> Penurunan densitas kolagen menyebabkan kulit menjadi kendur, kasar, dan tampak menua lebih cepat.<sup>2</sup> Upaya terapi menggunakan krim topikal berbahan kimia sering menimbulkan efek samping seperti iritasi, pengelupasan, dan fotosensitivitas.<sup>3</sup> Penggunaan bahan alam diketahui memberikan efek lebih lembut pada kulit, dengan risiko iritasi dan efek samping yang lebih rendah, cocok untuk penggunaan jangka panjang tanpa efek kumulatif negatif.<sup>4</sup> Kandungan alkaloid (vinblastin, vincristin) dan flavonoid *Catharanthus roseus* memiliki aktivitas antioksidan yang dapat langsung menetralkan *reactive oxygen species* (ROS), mengurangi kerusakan kolagen akibat UV-B.<sup>5,6</sup> Meningkatkan ekspresi IL-10 yang meningkat menekan inflamasi dan mempercepat regenerasi jaringan.<sup>7</sup>

Prevalensi kejadian *photoaging* lebih tinggi pada kulit dengan tipe IV dibandingkan dengan tipe lainnya. Derajat keparahan juga semakin meningkat seiring dengan bertambahnya usia. Seseorang dengan usia 55-60 tahun mendominasi kerusakan kulit derajat berat (25,3%) pada Wanita. Pola yang sama juga diamati pada pria dengan kerusakan kulit derajat berat sebanyak 20,8%. Berdasarkan sebaran geografi, seseorang yang hidup lebih dekat dengan ekuator



dan tingkat paparan sinar UV yang lebih tinggi mengalami photoaging beberapa tahun lebih cepat. Penelitian pada remaja usia 18-21 tahun di Jakarta dengan melibatkan 158 sampel menyatakan bahwa sebesar 78 orang mengalami penuaan dini.<sup>8</sup>

Beberapa penelitian awal telah menunjukkan bahwa ekstrak *Catharanthus roseus* memiliki kemampuan untuk melindungi sel dari stres oksidatif. IL-10 merupakan sitokin pleiotropik yang memiliki peran penting dalam regulasi respon imun dan inflamasi. IL-10 telah dikaitkan dengan efek perlindungan terhadap kerusakan akibat sinar UV dan potensi untuk meningkatkan sintesis kolagen.<sup>9,10</sup> *Catharanthus roseus* diketahui mengandung beragam senyawa bioaktif, seperti alkaloid, flavonoid, dan terpenoid, yang memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang kuat, berpotensi mendukung regenerasi dan proteksi kulit terhadap stres oksidatif.<sup>11</sup> Ekstrak etanol bunga *Catharanthus roseus* diformulasikan dengan salep dosis 15% dilaporkan memiliki aktivitas paling efektif dalam menyembuhkan luka bakar pada mencit putih jantan.<sup>12</sup> Laporan penggunaan ekstrak *Catharanthus roseus* terhadap densitas kolagen dan kadar IL-10 pada model *in vivo* masih terbatas, sehingga menjadi dasar penting untuk melakukan penelitian lebih lanjut.

Paparan UV-B telah terbukti menginduksi pembentukan *matriks metaloproteinase* (MMP) yang mendegradasi kolagen, mengurangi sintesis kolagen baru, dan memicu kaskade inflamasi yang dapat merusak struktur kulit.<sup>13</sup> Model paparan UV-B subkronik pada mencit dianggap relevan untuk mengevaluasi potensi fotoprotektif dari gel ekstrak *Catharanthus roseus*. Penggunaan model mencit dalam penelitian ini dipilih karena kemiripan struktur dan respons kulit

mencit dengan kulit manusia, serta kemampuan untuk mengontrol variabel eksperimental dengan lebih baik. Formulasi gel dipilih sebagai metode pemberian ekstrak *Catharanthus roseus* karena memiliki kemampuan penetrasi yang baik ke dalam lapisan kulit. Gel memungkinkan pelepasan zat aktif yang terkontrol dan berkelanjutan. Gel umumnya nyaman digunakan dan mudah diaplikasikan pada kulit, yang penting untuk kepatuhan dalam penggunaan jangka panjang. Namun, efektivitas gel ekstrak *Catharanthus roseus* dalam melindungi kulit dari efek paparan UV-B, khususnya dalam mencegah hilangnya kolagen, masih perlu dibuktikan secara ilmiah.<sup>10</sup>

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah ada pengaruh pemberian gel ekstrak *Catharanthus roseus* terhadap densitas kolagen dan kadar IL-10 pada model mencit pasca terpapar UV-B secara kronik?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Untuk mengetahui pengaruh pemberian gel ekstrak *Catharanthus roseus* terhadap densitas kolagen dan kadar IL-10 pada model mencit pasca terpapar sinar UV-B secara subkronik.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

- a. Menganalisis pengaruh gel ekstrak *Catharanthus roseus* terhadap peningkatan densitas kolagen pada model mencit pasca terpapar sinar UV-B secara subkronik.

- b. Menganalisis pengaruh gel ekstrak *Catharanthus roseus* terhadap peningkatan kadar IL-10 pada model mencit pasca terpapar sinar UV-B secara subkronik.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Teoritis**

Adapun manfaat teoritis yang diharapkan menjadi acuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Memberikan pemahaman lebih mendalam tentang mekanisme molekuler ekstrak *Catharanthus roseus* dalam melindungi kolagen kulit dari kerusakan akibat paparan UV-B subkronik.
- b. Memperluas pengetahuan tentang hubungan antara kadar IL-10 dan densitas kolagen dalam konteks fotoproteksi kulit.
- c. Berkontribusi pada pengembangan teori tentang pemanfaatan bahan alami dalam pencegahan photoaging.

### **1.4.2 Manfaat Praktis**

- a. Menyediakan dasar ilmiah untuk pengembangan produk perawatan kulit berbasis *Catharanthus roseus* yang efektif dalam mencegah photoaging.
- b. Membantu industri kosmetik dan farmasi dalam formulasi produk anti-penuaan yang lebih efektif dan berbasis bukti.
- c. Memberikan alternatif alami dan potensial bagi masyarakat dalam upaya melindungi kulit dari efek negatif paparan sinar UV.
- d. Mendukung upaya pemanfaatan tanaman obat lokal dalam pengembangan produk kesehatan dan kecantikan.

## 1.5 Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas penelitian

No	Peneliti, tahun	Judul	Metode	Hasil
1	Hanady S. A. Al-Shmgania et al., 2016 <sup>14</sup>	<i>Biosynthesis of silver nanoparticles from Catharanthus roseus leaf extract and assessing their antioxidant, antimicrobial, and wound-healing activities</i>	<i>In vitro, In vivo</i>	AgNPs yang disintesis menunjukkan aktivitas antioksidan dan antimikroba yang kuat secara in vitro, serta efektif dalam penyembuhan luka pada mencit secara in vivo.
2	Putri, N. P. A. M. M. C. 2023. <sup>15</sup>	Bioaktivitas topikal gel ekstrak daun tapak dara ( <i>Catharanthus roseus</i> L.) terhadap ekspresi TNF- $\alpha$ pada penyembuhan traumatic mukosa oral mencit ( <i>Mus musculus</i> ).	<i>In vivo</i>	Aplikasi topikal gel ekstrak daun tapak dara dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 20% menunjukkan kemampuan menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$ . Pemberian gel ekstrak tersebut secara signifikan berkontribusi dalam menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$ selama proses penyembuhan ulkus traumatik pada mukosa oral mencit.
3	Zelipha N. Kabubii et al., 2015 <sup>16</sup>	<i>Acute toxicity studies of Catharanthus roseus aqueous extract in male Wistar rats</i>	<i>In vivo</i>	Pemberian ekstrak air <i>Catharanthus roseus</i> pada dosis tinggi menyebabkan peningkatan signifikan pada WBC, kreatinin, urea, dan enzim hati, serta penurunan berat badan pada mencit. Namun, fungsi ginjal dan hati tidak terpengaruh secara signifikan

No	Peneliti, tahun	Judul	Metode	Hasil
4	A M Satish et al., 2021 <sup>17</sup>	<i>Evaluation of In vivo Wound Healing Activity of Catharanthus Roseus Aqueous Extract in Adult Albino Rats</i>	<i>In vivo</i>	Ekstrak air <i>Catharanthus roseus</i> meningkatkan kekuatan jaringan, mempercepat epitelisasi, dan meningkatkan sintesis kolagen pada berbagai model luka pada mencit albino, setara dengan obat standar sucralfate.
5	Leny L, Situmorang TNK, Siagian R, Hafiz I, Iskandar B. 2023. <sup>12</sup>	<i>Ointment Formulation of Tapak Dara (Catharanthus roseus (L.) G. Don) Flower Ethanol Extract and its Activity in Burn-Healing.</i>	<i>In vivo</i>	Salep ekstrak bunga tapak dara memiliki aktivitas yang baik sebagai penyembuh luka bakar pada tikus putih jantan. Konsentrasi yang paling efektif adalah salep yang mengandung 15% ekstrak etanol bunga tapak dara dalam penyembuhan luka bakar. <sup>12</sup>

Berbagai penelitian sebelumnya telah mengungkapkan potensi terapeutik *Catharanthus roseus* (tapak dara) dalam proses penyembuhan luka dan sebagai agen antiinflamasi. Penelitian terdahulu oleh Hanady et al. (2016) menunjukkan bahwa *Catharanthus roseus* mampu berperan sebagai agen antioksidan, antimikroba, dan mempercepat penyembuhan luka melalui biosintesis nanopartikel perak (*AgNPs*) secara *in vitro* dan *in vivo*. Namun, fokus utama penelitian tersebut adalah pada pemanfaatan teknologi nanopartikel, bukan bentuk topikal alami. Penelitian oleh Putri (2023) menunjukkan bahwa gel topikal ekstrak daun tapak dara dapat menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  pada proses penyembuhan traumatic ulcer mukosa oral mencit. Studi ini menjadi relevan karena menggunakan bentuk sediaan

gel, namun model penyakitnya berbeda, yakni luka traumatik mukosa oral, bukan kerusakan kulit akibat paparan radiasi UV.

Zelipha et al. (2015) melakukan studi toksisitas akut pada ekstrak air *Catharanthus roseus* yang berfokus pada keamanan konsumsi sistemik, tanpa mengeksplorasi efek topikal atau parameter inflamasi maupun regeneratif seperti IL-10 atau kolagen. Satish et al. (2021) mengevaluasi aktivitas penyembuhan luka dari ekstrak air tapak dara pada tikus albino, yang menunjukkan peningkatan kekuatan jaringan dan sintesis kolagen. Namun, penelitian ini tidak mengaitkan efek tersebut dengan paparan sinar UV B maupun modulasi sitokin antiinflamasi seperti IL-10.

Penelitian oleh Leny et al. (2023) mengevaluasi salep ekstrak bunga tapak dara dalam penyembuhan luka bakar, dan menunjukkan bahwa konsentrasi 15% paling efektif. Akan tetapi, fokus penelitian tetap pada penyembuhan luka termal, bukan kerusakan kulit akibat sinar UV B, serta tidak mengevaluasi parameter molekuler seperti IL-10 atau densitas kolagen.

Penelitian yang akan dilakukan menawarkan perspektif baru dalam pemanfaatan *Catharanthus roseus* dalam dermatologi, khususnya dalam mencegah kerusakan kolagen yang diinduksi oleh radiasi ultraviolet B (UV-B). Meskipun *Catharanthus roseus* telah banyak diteliti untuk berbagai aplikasi farmakologis, terutama dalam hal aktivitas antikanker, antioksidan, antimikroba, dan penyembuhan luka, penelitian ini spesifik mengevaluasi pengaruh gel topikal ekstrak daun *Catharanthus roseus* terhadap kadar IL-10 dan densitas kolagen pada



mencit C57BL/6 yang mengalami kerusakan kulit akibat paparan sinar UV B secara subkronik.





## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Kolagen

##### 2.1.1 Definisi

Kolagen merupakan protein struktural yang paling berlimpah dalam tubuh manusia, menyusun sekitar 30% dari total protein tubuh dan menjadi komponen utama ekstraseluler matriks (ECM). Protein ini memiliki peran krusial dalam memberikan kekuatan mekanis, elastisitas, dan integritas struktural pada berbagai jaringan dan organ, termasuk kulit, tulang, tendon, ligamen, dan pembuluh darah.<sup>18</sup>

Kolagen terdiri dari tiga rantai polipeptida, yang disebut rantai  $\alpha$ , yang membentuk struktur triple helix yang khas. Setiap rantai  $\alpha$  mengandung sekuens pengulangan Gly-X-Y, di mana X dan Y sering kali adalah prolin dan hidrosiprolin. Struktur unik ini memberikan stabilitas dan kekuatan yang luar biasa pada molekul kolagen, memungkinkannya untuk menahan berbagai tekanan mekanis<sup>19</sup>

Kolagen telah diidentifikasi setidaknya 28 tipe yang berbeda pada vertebrata, masing-masing dengan karakteristik dan fungsi spesifik. Kolagen tipe I, II, dan III adalah yang paling umum ditemukan, dengan tipe I mendominasi struktur kulit, tulang, dan tendon. Pada kulit manusia, kolagen tipe I membentuk sekitar 80-90% dari total kolagen dermis, diikuti oleh kolagen tipe III.<sup>20</sup>

Kolagen dalam struktur jaringan terlibat dalam berbagai proses biologis penting, termasuk penyembuhan luka, angiogenesis, dan perkembangan embrio. Protein ini juga berinteraksi dengan berbagai komponen ECM lainnya dan sel-sel, mempengaruhi perilaku sel seperti adhesi, migrasi, dan diferensiasi.<sup>21</sup>

### 2.1.2 Densitas Kolagen

Densitas kolagen adalah proses yang sangat kompleks dan terkontrol ketat, melibatkan berbagai tahapan mulai dari transkripsi gen hingga modifikasi pasca-translasi dan perakitan fibril. Proses ini diatur oleh berbagai faktor, termasuk faktor pertumbuhan, sitokin, hormon, stres mekanis, dan faktor lingkungan.<sup>22</sup>

Sintesis kolagen dimulai di dalam sel, terutama pada fibroblas dalam konteks kulit. Proses ini diinisiasi dengan transkripsi gen kolagen, yang menghasilkan mRNA prekursor. mRNA ini kemudian mengalami splicing untuk menghasilkan mRNA matang yang ditranslasikan pada ribosom yang terikat pada retikulum endoplasma kasar (RER). Hasil translasi ini adalah rantai pro- $\alpha$ , yang kemudian mengalami serangkaian modifikasi pasca-translasi yang krusial<sup>23</sup>

Modifikasi pasca-translasi meliputi hidroksilasi prolin dan lisin, yang sangat penting untuk stabilitas termal dan fungsi kolagen. Proses ini dikatalisis oleh enzim prolyl 4-hydroxylase dan lysyl hydroxylase. Selanjutnya, beberapa residu lisin dan hidroksilisin mengalami glikosilasi.

Modifikasi-modifikasi ini mempengaruhi interaksi antar molekul kolagen dan dengan komponen ECM lainnya.<sup>24</sup>

Kolagen yang telah termodifikasi menjadi tiga rantai pro- $\alpha$  akan bergabung membentuk prokolagen triple helix di dalam RER. Prokolagen ini kemudian ditransport melalui aparatus Golgi dan disekresikan ke ruang ekstraseluler. Di luar sel, enzim-enzim seperti procollagen N-proteinase dan C-proteinase juga dikenal sebagai BMP1 memotong ujung-ujung prokolagen, menghasilkan tropokolagen. Tropokolagen kemudian beragregasi dan berikatan silang untuk membentuk fibril kolagen yang matang.<sup>25</sup>

Densitas kolagen dipengaruhi oleh berbagai faktor regulatori. Faktor pertumbuhan seperti TGF- $\beta$  telah terbukti meningkatkan sintesis kolagen melalui aktivasi jalur sinyal Smad, sementara sitokin pro-inflamasi seperti TNF- $\alpha$  dapat menghambat sintesis kolagen melalui aktivasi NF- $\kappa$ B (Verrecchia & Mauviel, 2018). Paparan sinar ultraviolet, terutama UV-B, telah terbukti menurunkan densitas kolagen melalui berbagai mekanisme, termasuk peningkatan produksi matriks metaloproteinase (MMP) yang mendegradasi kolagen dan penurunan sintesis kolagen baru<sup>26</sup>

Proses terjadinya penurunan densitas kolagen yang signifikan. Hal ini disebabkan oleh kombinasi faktor intrinsik seperti penuaan kronologis dan ekstrinsik seperti paparan UV dan polusi. Penurunan ini tidak hanya melibatkan pengurangan sintesis kolagen baru, tetapi juga peningkatan degradasi kolagen yang ada, yang berkontribusi pada pembentukan kerutan dan hilangnya kekencangan kulit. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa

penuaan juga mempengaruhi kualitas kolagen yang diproduksi, dengan peningkatan crosslinking yang tidak teratur yang dapat mempengaruhi sifat mekanis jaringan <sup>27,28</sup>

Intervensi yang bertujuan untuk meningkatkan densitas kolagen atau melindungi kolagen yang ada dari degradasi menjadi fokus utama dalam penelitian dermatologi dan industri kosmetik. Pendekatan terbaru meliputi penggunaan peptida bioaktif, faktor pertumbuhan, dan bahan alami yang dapat memodulasi jalur sinyal yang terkait dengan sintesis.<sup>27</sup>

## **2.2 Interleukin-10 (IL-10)**

### **2.2.1. Definisi**

Interleukin-10 (IL-10) adalah sitokin pleiotropik yang memainkan peran krusial dalam regulasi sistem imun dan respons inflamasi. Pertama kali diidentifikasi pada tahun 1989 sebagai faktor penghambat sintesis sitokin IL-10 kemudian dikenal sebagai mediator kunci dalam mempertahankan homeostasis imun dan mencegah kerusakan jaringan akibat inflamasi berlebihan. <sup>29</sup>

IL-10 adalah protein homodimerik dengan berat molekul sekitar 35-40 kDa, yang terdiri dari dua subunit identik masing-masing berukuran 160 asam amino. Strukturnya termasuk dalam keluarga sitokin kelas 2, yang juga mencakup IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, dan IL-26. Gen IL-10 manusia terletak pada kromosom 1 dan terdiri dari 5 ekson dan 4 intron.<sup>30</sup>

Fungsi utama IL-10 adalah sebagai sitokin anti-inflamasi yang kuat. Ia bekerja dengan menghambat produksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- $\alpha$ ,

IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, dan IFN- $\gamma$  dari berbagai sel imun, terutama makrofag dan sel dendritik. Selain itu, IL-10 juga menghambat presentasi antigen dan aktivasi sel T dengan menurunkan ekspresi molekul MHC kelas II dan molekul ko-stimulatori pada antigen presenting cells (APCs).<sup>31</sup>

IL-10 memiliki peran penting dalam menjaga homeostasis dan melindungi terhadap kerusakan akibat stres lingkungan. Penelitian menunjukkan bahwa IL-10 dapat memodulasi respons imun kulit, mengurangi inflamasi, dan bahkan mempengaruhi proses penyembuhan luka dan remodeling jaringan.<sup>32</sup>

Studi juga mengungkapkan peran potensial IL-10 dalam regulasi metabolisme kolagen. IL-10 telah terbukti dapat menghambat degradasi kolagen dengan menurunkan ekspresi dan aktivitas matrix metalloproteinases (MMPs), serta meningkatkan produksi tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs). Hal ini menunjukkan bahwa IL-10 mungkin memiliki efek perlindungan terhadap degradasi matriks ekstraseluler yang berlebihan, yang sering terjadi dalam kondisi inflamasi kronis dan penuaan kulit.<sup>33</sup>

### **2.2.2. Aktivasi IL-10**

Aktivasi dan produksi IL-10 melibatkan mekanisme yang kompleks dan tergantung pada jenis sel dan stimulus yang diterima. IL-10 dapat diproduksi oleh berbagai sel imun, termasuk sel T regulatori (Treg), sel T helper tipe 2 (Th2), sel B regulatori, makrofag, sel dendritik, sel mast, dan bahkan beberapa sel non-imun seperti keratinosit.<sup>34</sup>

Proses aktivasi IL-10 dimulai dengan pengenalan pola molekuler terkait patogen (PAMPs) atau pola molekuler terkait kerusakan (DAMPs) oleh reseptor pengenalan pola (PRRs) pada sel imun. Aktivasi PRRs, seperti Toll-like receptors (TLRs), memicu kaskade sinyal intraseluler yang akhirnya mengarah pada aktivasi faktor transkripsi yang mengatur ekspresi gen IL-10.<sup>35</sup>

Beberapa jalur sinyal utama yang terlibat dalam aktivasi IL-10 meliputi:

- a. Jalur MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase): Aktivasi ERK1/2, p38, dan JNK dapat memicu produksi IL-10 melalui aktivasi faktor transkripsi seperti SP1 dan CREB
- b. Jalur NF- $\kappa$ B: Meskipun umumnya dikaitkan dengan respons pro-inflamasi, NF- $\kappa$ B juga dapat menginduksi ekspresi IL-10 dalam kondisi tertentu.
- c. Jalur STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3): Aktivasi STAT3 oleh sitokin seperti IL-6 dan IL-27 dapat meningkatkan produksi IL-10.
- d. Faktor transkripsi c-Maf: c-Maf telah terbukti sebagai regulator kunci ekspresi IL-10 dalam berbagai jenis sel T.

Aktivasi IL-10 dapat dipicu oleh berbagai stimulus, termasuk paparan UV. Penelitian menunjukkan bahwa paparan UV-B dapat menginduksi produksi IL-10 oleh keratinosit dan sel imun kulit sebagai mekanisme perlindungan terhadap kerusakan akibat radiasi. Namun, produksi IL-10 yang



berlebihan akibat paparan UV kronis juga dapat berkontribusi pada imunosupresi dan bahkan perkembangan kanker kulit.<sup>36</sup>

Regulasi aktivasi IL-10 sangat penting untuk mempertahankan keseimbangan antara respons imun yang adekuat dan pencegahan inflamasi berlebihan. Disregulasi produksi IL-10 telah dikaitkan dengan berbagai kondisi patologis, termasuk penyakit autoimun, infeksi kronis, dan kanker.<sup>37</sup>

Studi terbaru menunjukkan bahwa modulasi aktivitas IL-10 mungkin memiliki potensi terapeutik dalam mengurangi kerusakan kulit akibat paparan UV dan memperlambat proses penuaan kulit. Namun, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk sepenuhnya memahami kompleksitas regulasi IL-10 dalam kulit dan potensi terapeutiknya dalam perawatan kulit anti-penuaan.<sup>38</sup>

#### **2.2.2. Faktor yang mempengaruhi ekspresi IL-10**

Ekspresi IL-10 dipengaruhi oleh berbagai faktor yang melibatkan aspek genetik, imunologis, dan kondisi patologis. Polimorfisme pada gen IL-10, terutama di wilayah promotor, dapat mempengaruhi tingkat ekspresi IL-10. Perubahan ini dapat meningkatkan atau menurunkan produksi IL-10, yang berimplikasi pada kerentanan terhadap berbagai penyakit. IL-10 dapat diproduksi sebagai respons terhadap sinyal pro-inflamasi oleh hampir semua sel imun, termasuk sel T, sel B, makrofag, dan sel dendritik. Hal ini menunjukkan bahwa ekspresi IL-10 sangat dinamis dan memerlukan regulasi yang ketat untuk menjaga keseimbangan antara imunitas yang efektif dan perlindungan jaringan. Selama inflamasi, ekspresi IL-10 dapat mengalami



perubahan. Penelitian menunjukkan bahwa pada kondisi inflamasi, ekspresi IL-10 dapat menurun akibat aktivitas sitokin pro-inflamasi yang meningkat.

Usia dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka dan respons inflamasi. Semakin bertambahnya usia, kemampuan jaringan untuk beregenerasi dan respons inflamasi dapat menurun, yang mungkin mempengaruhi ekspresi IL-10. Jaringan adiposa merupakan organ yang aktif secara metabolik dan dapat mempengaruhi kadar IL-10. Obesitas telah dikaitkan dengan perubahan kadar IL-10. Memahami faktor-faktor yang mempengaruhi ekspresi IL-10 penting untuk pengembangan strategi terapeutik dalam mengatur respons imun dan inflamasi.<sup>39</sup>

### 2.3 *Catharanthus roseus* (Tapak Dara)

*Catharanthus roseus* adalah tumbuhan herbal dari keluarga *Apocynaceae*, yang sering dikenal dengan nama tapak dara, vinca, atau Madagascar periwinkle. Tanaman ini memiliki morfologi yang khas, dengan tinggi mencapai 30-100 cm, daun berbentuk lonjong, hijau tua, dan bunga berbentuk bintang yang berwarna putih hingga merah muda. Bunganya terdiri dari lima kelopak simetris yang sering kali menjadi daya tarik utama tanaman ini sebagai tanaman hias.<sup>40</sup>

*Catharanthus roseus* memiliki sistem akar tunggang dengan akar sekunder yang berkembang baik. Batangnya tegak dan bercabang-cabang, ditutupi oleh lapisan kutikula yang membantu mengurangi kehilangan air. Daunnya tersusun secara berlawanan, dengan struktur anatomi yang mencerminkan adaptasi terhadap lingkungan tropis, termasuk jaringan spons dan palisade yang

terorganisir dengan baik untuk fotosintesis yang efisien. Bunga tanaman ini bersifat hermaphrodit, artinya memiliki organ reproduksi jantan dan betina, yang memungkinkannya melakukan penyerbukan sendiri atau melalui bantuan serangga.<sup>41</sup>

*Catharanthus roseus* diklasifikasikan dalam kelas Magnoliopsida, ordo Gentianales, dan termasuk dalam famili Apocynaceae. Spesies ini adalah anggota dari genus *Catharanthus*, yang mencakup beberapa spesies lainnya, meskipun *Catharanthus roseus* adalah yang paling dikenal dan banyak digunakan dalam berbagai bidang, termasuk kedokteran.<sup>40</sup>

*Catharanthus roseus* dikenal dengan banyak nama umum, seperti tapak dara, vinca, atau *Madagascar periwinkle*. Asalnya dari Madagaskar, namun telah menyebar luas dan kini dapat ditemukan di berbagai belahan dunia, terutama di wilayah tropis dan subtropis. Tumbuhan ini memiliki daya adaptasi yang luar biasa, tumbuh subur di berbagai kondisi tanah dan iklim, sehingga menjadikannya salah satu tanaman hias yang populer. Selain keindahannya, *Catharanthus roseus* juga dikenal karena kandungan kimiawinya yang sangat berharga dalam dunia medis.<sup>40</sup>

*Catharanthus roseus* juga memiliki berbagai aplikasi medis lainnya. Ekstrak dari tanaman ini telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengatasi berbagai kondisi, seperti diabetes, hipertensi, dan infeksi mikroba.<sup>42,43</sup> Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *Catharanthus roseus* memiliki sifat antioksidan dan anti-inflamasi, yang memberikan dasar ilmiah bagi penggunaan tradisionalnya. *Catharanthus roseus* mengandung berbagai

jenis flavonoid seperti kaempferol, quercetin, kaempferol-3-O-glukosida; terpenoid seperti vindolin, vindolinin, dan serpentin, serta tannin seperti ellagitannin dan proanthocyanidin.<sup>44–46</sup> Bekerja melalui berbagai jalur molekuler dalam tubuh, menghambat enzim pro-inflamasi seperti *cyclooxygenase* (COX) dan *lipoxigenase* (LOX), yang menyebabkan peradangan.<sup>46</sup> Kandungan *Catharanthus roseus* berperan dalam meningkatkan kinerja SOD dan GPx, dua enzim penting dalam tubuh yang berfungsi untuk menetralkan radikal bebas. Potensi sebagai sumber bahan alami untuk pengembangan terapi antiinflamasi dan antioksidan yang efektif dalam mengatasi berbagai kondisi kesehatan.<sup>45</sup>

#### 2.4 Photoaging

Sinar UV dapat dibagi atas UVA, UV-B, dan UVC, Setiap komponen dari UV memberikan efek yang berbeda pada sel, jaringan, dan molekul.<sup>47</sup> Efek paparan radiasi UV-B menyebabkan kerusakan DNA, inflamasi, dan immunosupresi. Hal ini disebabkan oleh produksi ROS.<sup>48</sup> Struktur integritas kulit diatur oleh kolagen. Penuaan berhubungan dengan perubahan struktur kolagen.<sup>8</sup> Stimulasi sitokin proinflamasi mengaktifasi NF-κB dan *mitogen-activated protein kinase* (MAPK). Melalui jalur NF-κB, mengaktifasi faktor transkripsi nukleus activator protein-1 (AP-1). AP-1 akan menyebabkan peningkatan kadar *matrix metalloproteinase* (MMP) yang akan bertanggung jawab dalam degradasi kolagen pada kulit.<sup>49</sup> MMP merupakan suatu enzim *zinc-dependent endopeptidase*, disebut juga *matrixins* atau *kolagenase*, berperan dalam merombak matriks ekstraseluler. Beberapa grup dari MMP

adalah kolagenase, gelatinase, dan stromelysin. Kolagenase berperan dalam merombak kolagen instertisial (kolagen), dengan MMP-1 sebagai MMP yang paling dominan. Gelatinase, utamanya MMP-2 dan MMP-9, mendegradasi kolagen membrane basalis dan denaturasi kolagen struktural. Stromelysin (MMP-3, MMP-10, MMP-11, dan MMP-19) mendegradasi kolagen membrane basalis, proteoglikan, dan matriks glikoprotein.<sup>49,50</sup>

Penuaan kulit ditandai oleh perubahan histologis dan morfologis secara terus menerus dan tidak dapat dihindari akibat pengaruh faktor intrinsik dan ekstrinsik.<sup>51</sup> Secara klinis, penuaan akibat faktor intrinsik akan tampak kering dan pucat dengan kerutan halus dan kulit yang kendur; sedangkan kulit yang mengalami photoaging akan terlihat lebih gelap, lebih kasar, dan sering muncul bintik-bintik.<sup>52</sup>

Prevalensi kejadian *photoaging* lebih tinggi pada kulit dengan tipe IV dibandingkan dengan tipe lainnya. Derajat keparahan juga semakin meningkat seiring dengan bertambahnya usia. Seseorang dengan usia 55-60 tahun mendominasi kerusakan kulit derajat berat (25,3%) pada Wanita. Pola yang sama juga diamati pada pria dengan kerusakan kulit derajat berat sebanyak 20,8%. Berdasarkan sebaran geografi, seseorang yang hidup lebih dekat dengan ekuator dan tingkat paparan sinar UV yang lebih tinggi mengalami photoaging beberapa tahun lebih cepat. Penelitian pada remaja usia 18-21 tahun di Jakarta dengan melibatkan 158 sampel menyatakan bahwa sebesar 78 orang mengalami penuaan dini.<sup>8</sup>

Tampilan klinis antara penuaan akibat faktor intrinsik dan ekstrinsik dapat muncul saling bertumpang tindih, namun perbedaan diantara keduanya masih dapat dibedakan. Kerutan halus, xerosis, pruritus, dan meningkatnya kerapuhan kulit merupakan karakteristik dari penuaan akibat faktor intrinsik. Penuaan akibat faktor ekstrinsik (*photoaging*) akan bermanifestasi sebagai kerutan yang halus dan kasar, kulit terasa kasar, kusam, telangiektaksis, dan pigmentasi kecoklatan berbintik.<sup>3</sup> *Photoaging* menyebabkan peningkatan jumlah sel yang dapat dijumpai pada dermis seperti, peningkatan jumlah sel mast, histiosit, dan fibroblas. Selain itu, paparan UV-B juga akan mempengaruhi kolagen dan elastin. Perubahan pada vaskular kulit akibat paparan UV-B menyebabkan pembuluh darah menjadi berdilatasi dengan membran hialin yang menebal. Hal ini menyebabkan pembuluh darah menjadi rapuh dan mudah terjadi perdarahan, dan lebam. Perubahan vaskular lainnya yang dapat diamati adalah munculnya telangiektasis.<sup>53</sup> Sinar UV B dapat menimbulkan gejala kemerahan pada kulit, yang merupakan bentuk iritasi kulit, kulit memiliki gejala seperti terbakar, dan eritema. Paparan UV-B dapat memperburuk sel-sel kulit, dan menyebabkan berbagai jenis kanker kulit seperti melanoma, karsinoma sel merkel, karsinoma sel basal, dan karsinoma sel skuamosa.<sup>3</sup>

## 2.5 Paparan sinar ultraviolet B (UVB)

Paparan sinar ultraviolet B (UVB) merupakan salah satu penyebab utama kerusakan kulit akibat radiasi non-ionisasi. Efek biologisnya sangat dipengaruhi oleh durasi dan intensitas paparan. Paparan akut UVB terjadi

dalam jangka waktu sangat singkat, biasanya satu hingga tiga hari, dengan dosis tinggi yang cukup untuk memicu reaksi inflamasi instan. Secara klinis, paparan akut menimbulkan gejala klasik seperti eritema (kemerahan), edema, rasa nyeri, dan sensasi terbakar pada kulit. Di tingkat seluler, UVB akut menyebabkan kerusakan langsung pada DNA berupa terbentuknya *cyclobutane pyrimidine dimers* (CPD), serta memicu aktivasi keratinosit dan sel imun kulit. Hal ini akan meningkatkan ekspresi berbagai sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-6, serta mendorong terjadinya stres oksidatif akut. Model paparan akut umumnya digunakan untuk mengevaluasi reaksi inflamasi jangka pendek, seperti dalam studi sunburn atau uji fotoprotektor.<sup>54</sup>

Paparan subkronis UVB berlangsung lebih lama, yaitu selama satu hingga empat minggu dengan frekuensi paparan yang berulang, meskipun dosisnya lebih rendah dibanding paparan akut. Efek yang ditimbulkan bersifat akumulatif dan bertahap, tanpa disertai reaksi inflamasi tajam. Pada tingkat makroskopis, kulit yang terpapar secara subkronis menunjukkan gejala seperti kekeringan (xerosis), kehilangan kilap alami, pengelupasan halus, dan keratinisasi abnormal. Secara mikroskopis dan molekuler, terjadi penurunan kadar Aquaporin-3 (AQP3) dan hyaluronic acid (HA), yang berperan penting dalam menjaga hidrasi kulit. Selain itu, paparan subkronis juga menyebabkan penurunan densitas kolagen akibat peningkatan enzim perombak matriks seperti *matrix metalloproteinase* (MMP), serta penurunan kadar sitokin antiinflamasi seperti IL-10. Model ini sangat sesuai untuk meniru kondisi



photoaging ringan hingga sedang dan umum digunakan dalam penelitian bahan topikal yang bersifat antiinflamasi atau regeneratif.<sup>55</sup>

Paparan kronis UVB mengacu pada eksposur jangka panjang yang berlangsung lebih dari empat minggu, bahkan hingga berbulan-bulan. Paparan kronis ini merepresentasikan kondisi kerusakan kulit yang progresif dan ireversibel, seperti yang terjadi pada individu yang rutin terpapar sinar matahari tanpa perlindungan. Efeknya bersifat degeneratif dan dapat memicu transformasi seluler menuju keganasan. Secara klinis, kulit mengalami penebalan, hiperpigmentasi, elastosis, hingga terbentuknya lesi prakanker seperti keratosis aktinik. Di tingkat molekuler, paparan kronis meningkatkan mutasi DNA, terutama pada gen penekan tumor seperti p53, serta meningkatkan ekspresi MMP dan penurunan sintesis kolagen tipe I dan III. Selain itu, terjadi penurunan mekanisme antioksidan endogen dan melemahnya respons imun lokal. Model paparan UVB kronis sering digunakan untuk studi photoaging berat, fotokarsinogenesis, dan evaluasi kemopreventif jangka panjang.<sup>56</sup>

Paparan subkronis UVB merupakan model eksperimental yang ideal untuk menilai efektivitas terapi topikal terhadap kerusakan kulit ringan hingga sedang. Dalam konteks penelitian mengenai pengaruh gel ekstrak *Catharanthus roseus*, model ini sangat tepat untuk mengevaluasi perubahan densitas kolagen dan kadar IL-10 tanpa menimbulkan efek destruktif berat seperti pada model kronis, namun tetap menunjukkan kerusakan kulit nyata yang relevan secara klinis.<sup>57</sup>



## **2.6 Pengaruh Gel ekstrak *Catharanthus roseus* terhadap densitas kolagen dan kadar IL-10 akibat paparan sinar UV-B sub kronis**

Sediaan dalam bentuk gel memiliki berbagai keunggulan dibandingkan dengan bentuk sediaan topikal lainnya, seperti krim, salep, atau lotion. Gel memiliki konsistensi yang ringan dan tidak berminyak, sehingga lebih nyaman digunakan di kulit, ideal untuk sediaan yang membutuhkan penetrasi cepat ke lapisan kulit, seperti obat topikal atau kosmetik antiaging. Gel mampu mengontrol pelepasan zat aktif ke kulit secara bertahap dan merata, meningkatkan efektivitas terapi, formulasi berbasis gel dapat digunakan untuk meningkatkan bioavailabilitas bahan aktif. Gel lebih stabil daripada sediaan berbasis minyak atau emulsi, karena tidak mudah mengendap atau terpisah fase. Ideal untuk aplikasi lokal pada area tertentu, karena tidak mudah menyebar ke area yang tidak diinginkan.<sup>58,59</sup>

Radiasi ultraviolet B (UV-B) merupakan salah satu komponen dari spektrum sinar ultraviolet yang memiliki panjang gelombang antara 280-320 nm. Paparan UV-B yang berkepanjangan diketahui berperan signifikan dalam proses penuaan kulit, khususnya melalui induksi kerusakan pada jaringan kolagen.<sup>60</sup> Kolagen adalah protein utama dalam matriks ekstraseluler kulit yang memberikan struktur, kekuatan, dan elastisitas. Degradasi kolagen yang disebabkan oleh paparan UV-B dapat menyebabkan hilangnya kekencangan kulit, munculnya keriput, serta tanda-tanda penuaan lainnya.

Salah satu mekanisme utama di mana UV-B menyebabkan kerusakan kolagen adalah melalui peningkatan produksi enzim matrix metalloproteinases

(MMPs), khususnya MMP-1 (kolagenase). Enzim ini bertanggung jawab atas degradasi kolagen tipe I dan III, yang merupakan tipe kolagen yang paling banyak terdapat dalam kulit manusia.<sup>61</sup> Paparan UV-B memicu reaksi berantai yang melibatkan stres oksidatif dan aktivasi faktor transkripsi, seperti AP-1, yang kemudian meningkatkan ekspresi MMPs. Hal ini mengakibatkan degradasi kolagen yang tidak seimbang dengan sintesis kolagen baru, sehingga terjadi penurunan jumlah total kolagen dalam kulit.

Paparan UV-B juga memicu pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang dapat merusak struktur kolagen secara langsung dan mempercepat proses penuaan kulit. ROS dapat mengoksidasi komponen lipid, protein, dan DNA dalam sel, menyebabkan peradangan kronis yang memperparah degradasi kolagen. Stres oksidatif yang terus-menerus akibat paparan UV-B berperan dalam mengganggu homeostasis kulit dan mempercepat kerusakan jaringan kolagen.<sup>62</sup>

Paparan UV-B kronik, yaitu eksposur berulang dalam jangka waktu yang lama, memiliki konsekuensi lebih serius. Secara molekuler, UV-B memicu terjadinya stres oksidatif melalui pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) yang merusak komponen seluler seperti lipid, protein, dan DNA. Stres oksidatif ini kemudian mengaktifkan jalur sinyal yang meningkatkan ekspresi enzim matriks metaloproteinase (MMP), terutama MMP-1 dan MMP-3, yang berperan dalam degradasi kolagen. Seiring waktu, paparan UV-B kronik merusak struktur kolagen dan elastin di dermis, yang mengarah pada penurunan elastisitas kulit, munculnya kerutan, dan kekenduran kulit.<sup>63</sup>

Paparan UV-B kronik juga memicu reaksi inflamasi yang berkelanjutan. Inflamasi yang terus-menerus dapat merusak jaringan kulit dan mempercepat proses penuaan.<sup>64</sup> Dalam respons terhadap kerusakan UV-B, sel-sel kulit melepaskan berbagai sitokin pro-inflamasi yang memperburuk kerusakan jaringan. Dalam keadaan normal, tubuh juga menghasilkan sitokin anti-inflamasi seperti Interleukin-10 (IL-10) yang berfungsi untuk menyeimbangkan reaksi inflamasi. Paparan UV-B kronik dapat mengganggu regulasi sitokin ini, yang menyebabkan respons inflamasi yang lebih intens dan berpotensi merusak jaringan kulit lebih lanjut.

Efek jangka panjang dari paparan UV-B kronik tidak hanya terbatas pada penuaan dini, tetapi juga dapat meningkatkan risiko perkembangan kanker kulit, termasuk karsinoma sel skuamosa dan karsinoma sel basal. UV-B dapat menyebabkan kerusakan DNA secara langsung dengan membentuk dimer pirimidin yang mengganggu replikasi DNA, sehingga meningkatkan kemungkinan mutasi genetik. Mekanisme perbaikan DNA dalam sel yang terpapar UV-B sering kali terganggu, terutama jika paparan terjadi secara kronik. Akumulasi kerusakan DNA ini menjadi salah satu faktor utama dalam proses karsinogenesis kulit.<sup>65</sup>

Penelitian juga menunjukkan bahwa UV-B dapat mempengaruhi aktivitas fibroblas, yaitu sel-sel yang bertanggung jawab atas produksi kolagen. Paparan UV-B secara signifikan mengurangi proliferasi fibroblas dan kemampuan mereka untuk mensintesis kolagen, terutama kolagen tipe I, yang merupakan jenis kolagen utama yang memberikan kekuatan pada kulit. Penurunan aktivitas

fibroblas ini menyebabkan gangguan dalam proses perbaikan kulit dan regenerasi kolagen yang lambat, memperburuk hilangnya kolagen secara keseluruhan <sup>66</sup>

UV-B berperan penting dalam hilangnya kolagen melalui mekanisme yang kompleks, termasuk induksi enzim MMPs, pembentukan ROS, dan penghambatan aktivitas fibroblas. Acuan ini penting untuk pengembangan strategi pencegahan dan terapi yang dapat melindungi kolagen kulit dari kerusakan akibat paparan UV-B dan memperlambat proses penuaan kulit.

Peran IL-10 dalam paparan UV-B tidak hanya terbatas pada regulasi inflamasi, tetapi juga pada perlindungan kolagen. Studi menunjukkan bahwa peningkatan kadar IL-10 dalam jaringan kulit dapat mendukung proses penyembuhan luka dan regenerasi kolagen. IL-10 mampu menurunkan produksi MMP yang merusak kolagen, serta meningkatkan aktivitas fibroblas, sel yang bertanggung jawab dalam produksi kolagen. Oleh karena itu, regulasi IL-10 yang efektif dianggap penting dalam mempertahankan integritas jaringan kolagen saat kulit terpapar UV-B secara kronik. <sup>66</sup>

Mekanisme molekuler yang mendasari hubungan antara paparan UV-B, kerusakan kolagen, dan regulasi IL-10 masih menjadi subjek penelitian yang berkembang. Secara keseluruhan, paparan UV-B kronik memberikan dampak yang kompleks terhadap homeostasis kulit. Di satu sisi, UV-B meningkatkan degradasi kolagen melalui aktivasi MMP dan produksi radikal bebas, sementara di sisi lain, adanya IL-10 yang berfungsi sebagai faktor pelindung memberikan peluang untuk menyeimbangkan dampak buruk tersebut.

## BAB III

### KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

#### 3.1 Kerangka Teori

Paparan sinar UV-B diketahui dapat menyebabkan kerusakan pada kulit, termasuk stres oksidatif yang diinduksi oleh peningkatan produksi *reaktif oksigen spesies* (ROS). Proses ini dapat mengarah pada peradangan, yang berperan dalam berbagai gangguan kulit. Oleh karena itu, penggunaan ekstrak *Catharanthus roseus*, yang dikenal memiliki sifat antioksidan dan antiinflamasi, menjadi fokus utama dalam penelitian ini.

Pemberian gel ekstrak *Catharanthus roseus* diharapkan dapat menetralkan ROS yang dihasilkan akibat paparan UV-B, sehingga mengurangi dampak negatif dari stres oksidatif pada jaringan kulit. Penurunan kadar ROS dapat mempengaruhi jalur pensinyalan seluler yang terlibat dalam sintesis kolagen dan produksi sitokin, termasuk IL-10. IL-10 adalah sitokin antiinflamasi yang dapat membantu mengurangi peradangan dan mendukung proses penyembuhan kulit. Penelitian ini berusaha untuk meneliti apakah pemberian ekstrak tersebut dapat meningkatkan ekspresi IL-10 dan, pada gilirannya, berkontribusi pada densitas kolagen yang lebih baik.

Gel ekstrak *Catharanthus roseus* mengandung Vinblastine, Vincristine, Flavonoid, Saponin, dan Fenol yang bekerja melalui aktivasi jalur Nrf2, meningkatkan ekspresi enzim antioksidan SOD, GPX, dan GSH, serta mengurangi stres oksidatif. Senyawa bioaktifnya juga menstimulasi IL-10, sitokin antiinflamasi yang menekan produksi TNF- $\alpha$  dan IL-6, sehingga mengurangi inflamasi dan

mempercepat regenerasi kulit. Selain itu, IL-10 menghambat degradasi matriks ekstraseluler (ECM) dan meningkatkan sintesis kolagen dengan menekan MMPs, sementara flavonoid dan saponin mempercepat proliferasi fibroblas. Mekanisme ini berkontribusi pada peningkatan densitas kolagen.

Dalam penelitian ini, model mencit akan dibagi menjadi kelompok perlakuan yang berbeda, termasuk kelompok yang diberikan gel ekstrak *Catharanthus roseus* dan kelompok kontrol. Setelah periode perlakuan, pengukuran ekspresi IL-10 dan analisis densitas kolagen akan dilakukan untuk mengevaluasi efek dari perlakuan tersebut. Diharapkan bahwa dengan pendekatan ini, kita dapat memahami secara lebih mendalam tentang mekanisme yang menghubungkan ekstrak *Catharanthus roseus* dengan perbaikan kondisi kulit pasca-paparan UV-B, serta kontribusinya dalam meningkatkan ekspresi IL-10 dan densitas kolagen.

Secara keseluruhan, kerangka pikir penelitian ini mengintegrasikan aspek-aspek biokimia yang relevan, menciptakan alur yang logis dari paparan UV-B ke efek perlindungan yang diberikan oleh ekstrak *Catharanthus roseus*, dan dampaknya terhadap ekspresi IL-10 serta densitas kolagen. Hal ini diharapkan tidak hanya memberikan wawasan baru mengenai potensi penggunaan ekstrak herbal dalam dermatologi, tetapi juga mendukung pengembangan terapi yang lebih efektif untuk masalah kulit yang terkait dengan paparan sinar UV-B.

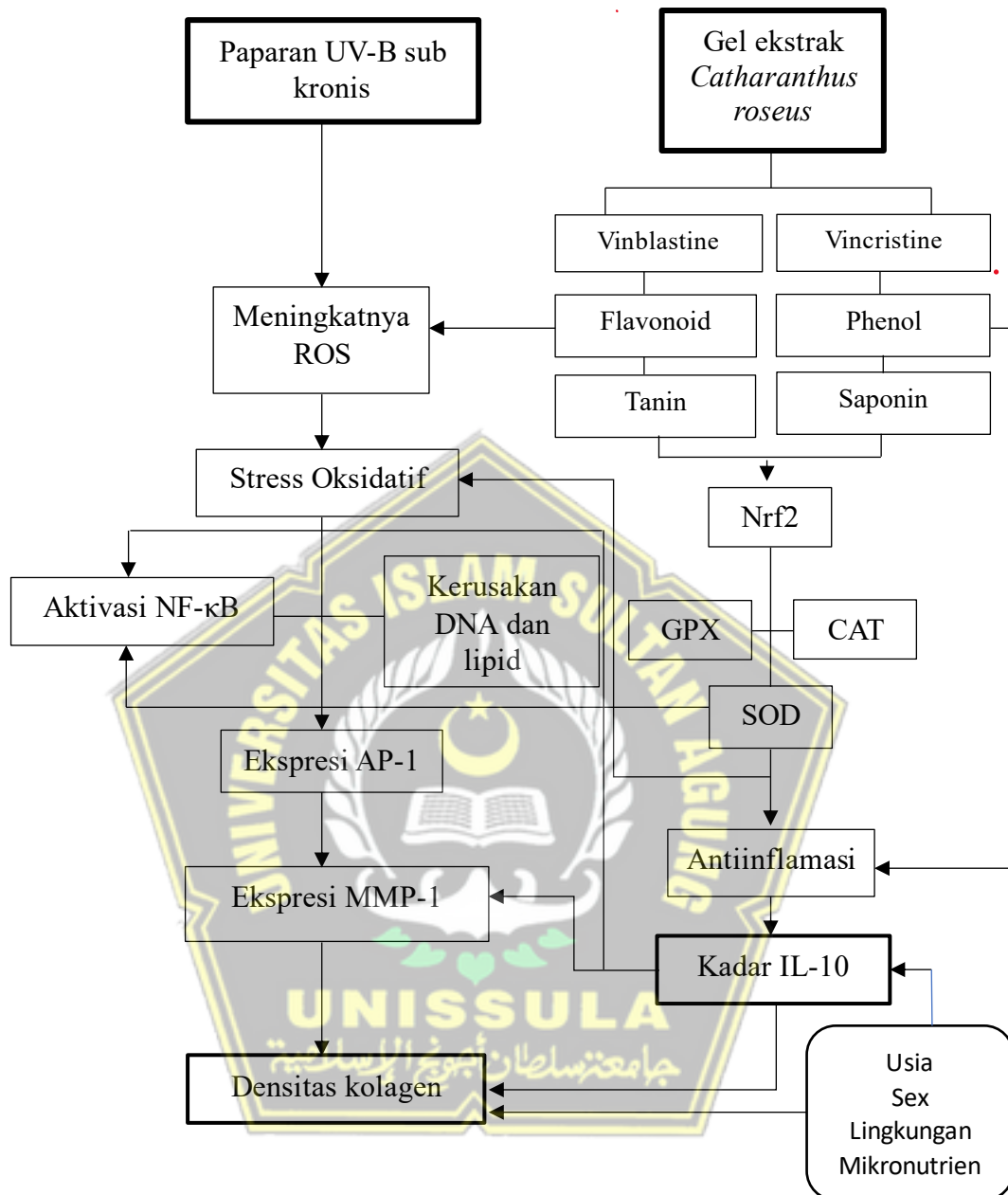
Efek paparan radiasi UV-B menyebabkan kerusakan DNA, inflamasi, dan immunosupresi. Hal ini disebabkan oleh produksi ROS.<sup>48</sup> Struktur integritas kulit diatur oleh kolagen. Penuaan berhubungan dengan perubahan struktur kolagen.<sup>8</sup> Stimulasi sitokin proinflamasi mengaktivasi NF- $\kappa$ B dan *mitogen-activated protein*



*kinase* (MAPK). Melalui jalur NF- $\kappa$ B, mengaktivasi faktor transkripsi nukleus activator protein-1 (AP-1). AP-1 akan menyebabkan peningkatan kadar *matrix metalloproteinase* (MMP) yang akan bertanggung jawab dalam degradasi kolagen pada kulit.<sup>49</sup> MMP merupakan suatu enzim *zinc-dependent endopeptidase*, disebut juga *matrixins* atau *kolagenase*, berperan dalam merombak matriks ekstraseluler. Beberapa grup dari MMP adalah kolagenase, gelatinase, dan stromelysin. Kolagenase berperan dalam merombak kolagen instertisial (kolagen), dengan MMP-1 sebagai MMP yang paling dominan. Gelatinase, utamanya MMP-2 dan MMP-9, mendegradasi kolagen membrane basalis dan denaturasi kolagen struktural. Stromelysin (MMP-3, MMP-10, MMP-11, dan MMP-19) mendegradasi kolagen membrane basalis, proteoglikan, dan matriks glikoprotein.<sup>49,50</sup>

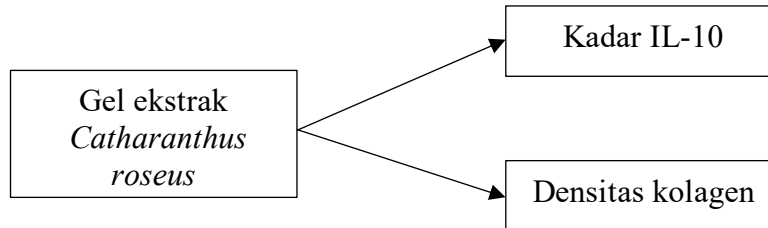
Penuaan kulit ditandai perubahan histologis dan morfologis secara terus menerus dan tidak dapat dihindari akibat pengaruh faktor intrinsik dan ekstrinsik.<sup>51</sup> Secara klinis, penuaan akibat faktor intrinsik akan tampak kering dan pucat dengan kerutan halus dan kulit yang kendur; sedangkan kulit yang mengalami photoaging akan terlihat lebih gelap, lebih kasar, dan sering muncul bintik-bintik.<sup>52</sup>





Gambar 3.1 Kerangka teori

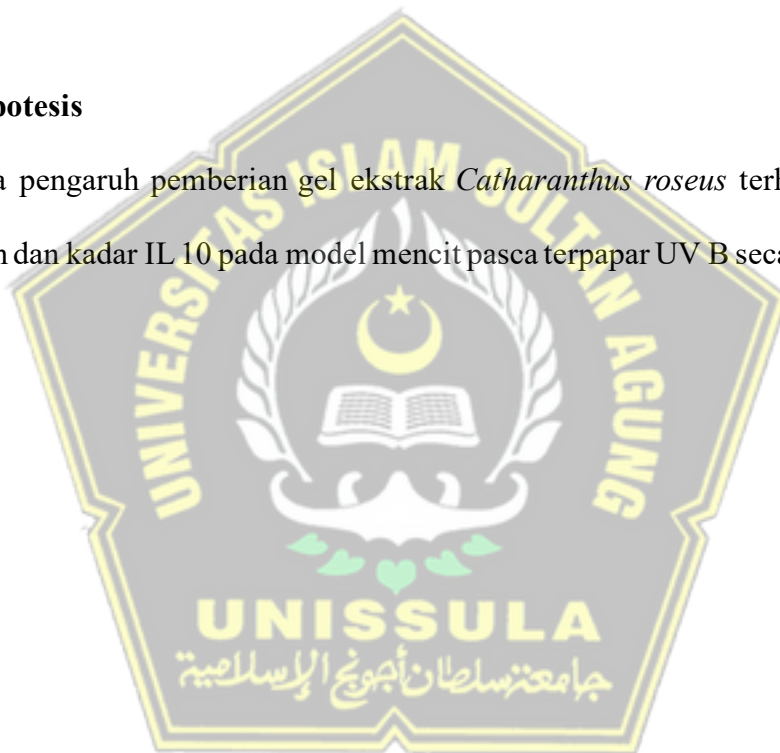
### 3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka konsep

### 3.3 Hipotesis

Ada pengaruh pemberian gel ekstrak *Catharanthus roseus* terhadap densitas kolagen dan kadar IL 10 pada model mencit pasca terpapar UV B secara sub kronik.

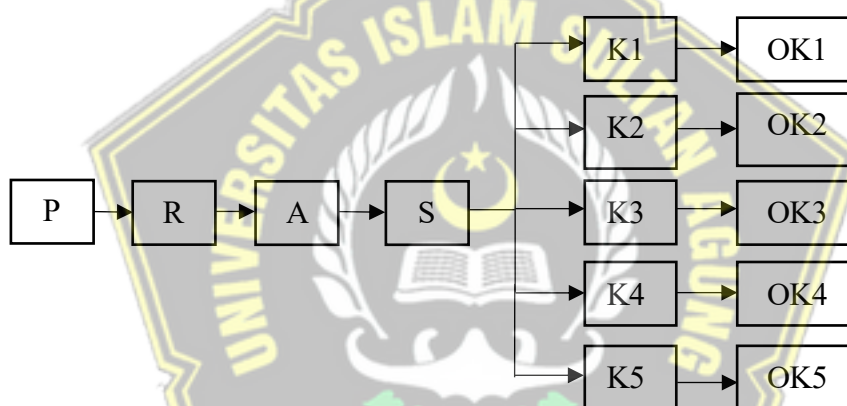


## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *post-test only control group design*. Subjek penelitian menggunakan mencit C57BL/6 jantan dengan berat badan 25-30g. Mencit dibagi secara acak ke dalam beberapa kelompok perlakuan.



Gambar 4.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan :

P : Populasi

R : Random Alokasi

A : Adaptasi

S : Sampel

O : Observasi/Pengamatan

Kelompok K1 : Mencit tanpa paparan sinar UV-B dan tidak diberikan gel.

Kelompok K2 : Mencit dipaparkan sinar UV-B dan diberi *base gel* selama 14 hari.

Kelompok K3 : Mencit dipaparkan sinar UV-B dan diberikan vitamin E selama 14 hari.

Kelompok K4 : Mencit dipaparkan sinar UV-B dan diberikan gel ekstrak *Catharanthus roseus* dosis 15% selama 14 hari.

Kelompok K5 : Mencit dipaparkan sinar UV-B dan diberikan gel ekstrak

*Catharanthus roseus* dosis 30% selama 14 hari.

## 4.2 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

### 4.2.1 Variabel Bebas

Gel ekstrak *Catharanthus roseus* dosis 15% dan 30%

### 4.2.2 Variabel Terikat

Kadar IL-10 dan Densitas kolagen

### 4.2.3 Variabel Prakondisi

Variabel prakondisi dalam penelitian ini adalah Mencit C57BL/6 yang dipapar sinar UV-B subkronik selama 14 hari.

## 4.3 Definisi Operasional

### a. Gel Ekstrak *Catharanthus roseus*

Gel Ekstrak *Catharanthus roseus* diformulasikan menggunakan ekstraksi dengan pelarut etanol 70%. Ekstrak yang diperoleh digunakan untuk membuat sediaan gel pada konsentrasi 15% dan 30%, menggunakan basis gel yang terdiri dari Propilen glikol, PVA (*Polivinyll Alcohol*), HPMC (*Hidroksipropil metilselulosa*) sebagai agen pembentuk gel, bersama dengan propilen glikol, metil paraben, propil paraben, etanol 96%, dan aquadest. Proses pembuatan dilakukan di Laboratorium Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFAR) Semarang, gel dioleskan sekali sehari pada punggung selama 14 hari.

Satuan ukur : mg

skala : Ordinal

#### **b. Kadar IL-10**

Kadar IL-10 pada serum darah mencit setelah perlakuan secara topikal selama 14 hari, pada hari ke-15, darah mencit diambil, kemudian disentrifugasi untuk memperoleh serum. kadar IL-10 dalam serum diukur menggunakan metode ELISA sesuai protokol kit komersial, dengan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 450 nm. Metode ini digunakan untuk menilai respon inflamasi akibat paparan UVB dan mengevaluasi efektivitas perlakuan topikal.

Satuan ukur : ng/mL

Skala ukur : Rasio.

#### **c. Densitas kolagen**

Densitas kolagen diperiksa dari sampel jaringan kulit mencit yang diambil pada hari ke 15, kemudian dilakukan analisis untuk menilai jumlah kolagen dengan pewarnaan *Masson's Trichrome*. Peningkatan jumlah kolagen ditandai dengan terlihatnya peningkatan kepadatan atau intensitas warna merah pada area yang mengandung kolagen. Pemeriksaan kolagen dilakukan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Satuan : %

Skala : Rasio

### **4.4 Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian**

Sampel dalam penelitian ini terdiri dari mencit jantan berusia 6-8 minggu, dengan berat 25-30g. Mencit tersebut diaklimatisasi selama 1 minggu, ditempatkan di kandang terpisah, dan diberi makan makanan normal. Kriteria penggunaan hewan percobaan adalah sebagai berikut:

a) Kriteria Inklusi

1. Mencit berusia 6-8 minggu
2. Berat badan antara 25-30g
3. Mencit sehat (Gerak aktif, makan minum cukup, tidak ada kelainan morfologis yang tampak)

b) Kriteria Drop Out

Mencit yang mati atau terkena infeksi selama perlakuan.

#### 4.5 Teknik Pengambilan Sampel Penelitian

Dalam penelitian ini, pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan teknik pengambilan sampel probabilitas, yaitu pemilihan sampel dari suatu populasi yang setiap anggotanya mempunyai peluang yang sama untuk dipilih. Metode yang digunakan adalah *simple random sampling*, yaitu metode pengambilan sampel acak yang sangat mudah.

#### 4.6 Besar sampel

Ukuran sampel minimal dihitung menurut kriteria WHO, dengan 5 sampel per kelompok. Penelitian ini melibatkan 25 mencit C57BL/6 jantan, dengan 5 mencit untuk setiap kelompok. Seekor mencit tambahan dimasukkan ke dalam setiap

kelompok sebagai cadangan jika terjadi *drop out* sampel, sehingga totalnya menjadi 30 mencit.

#### 4.7 Alat dan Bahan

##### 4.7.1 Alat

1. Pada pembuatan ekstrak diperlukan alat rotatory evaporator, alat sohlet, oven, kertas saring, mesin penggiling, gelas ukur, pipet ukur, wadah penyimpanan steril.
2. Selama perawatan mencit, kandang dilengkapi dengan persediaan makanan dan air, papan fiksasi, jarum, sarum tangan, masker, pinset, gunting, pisau cukur, alat UV light (broadband dengan peak emission pada 302 nm) dengan dosis minimal eritem 0,5 J/  $cm^2$ , wadah paparan.
3. Alat untuk membuat sampel pemeriksaan diperlukan pisau scalpel, PBS (PH 7,4), dan sentrifuge.
4. Kit ELISA, polystyrene 48 well microtiter plate (microplate), micropipet, ELISA reader, Elisa plate, Incubator digunakan sebagai alat pemeriksaan.

##### 4.7.2 Bahan

1. Bahan dalam pembuatan ekstrak *Catharanthus roseus*, etanol 70%.
2. Bahan selama perlakuan menggunakan mencit, pakan dan air minum untuk mencit.
3. Bahan yang digunakan dalam pemeriksaan ELISA: microplate ELISA, standard diluent, blocking buffer, sampel diluent, biotinylated antibodi, capture antibodi, ABC, Enzim konjugat HRP, Substrat kromogenik TMB, stop solution, wash solution.



## 4.8 Cara Penelitian dan Alur Kerja

### 4.8.1 Perolehan *Ethical Clearance*

*Ethical clearance* penelitian diajukan kepada komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

### 4.8.2 Pembuatan Ekstrak *Catharanthus roseus*

Sampel *Catharanthus roseus* seberat 1 kg dipisahkan dan dikeringkan di dalam oven pada suhu 50°C. Setelah proses pengeringan, kadar air diperiksa menggunakan moisture balance. Jika kadar air yang dihasilkan kurang dari 10%, pengeringan dianggap berhasil. Selanjutnya, simplisia tersebut disortasi, dipotong kecil-kecil, dan ditimbang. Kemudian, simplisia diblender hingga menjadi serbuk, lalu diayak menggunakan ayakan berukuran 20 mesh. Sebanyak 500 gram serbuk simplisia *Catharanthus roseus* diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan 3.750 ml pelarut etanol 70%. Serbuk simplisia dimasukkan ke dalam botol berwarna gelap secara terpisah. Setelah itu, simplisia direndam dalam pelarut etanol selama 5 hari, dengan pengocokan dilakukan 3 kali sehari. Setelah 3 hari, campuran tersebut disaring, dan ampasnya dimaserasi ulang selama 2 hari menggunakan 1.250 ml etanol 70%. Proses ini diulang sebanyak tiga kali. Filtrat yang terkumpul kemudian dikentalkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental.

#### 4.8.3 Pembuatan Sediaan Gel Ekstrak *Catharanthus roseus*

Proses pembuatan sediaan gel *Catharanthus roseus* dimulai dengan menimbang semua bahan yang diperlukan. PVA dilelehkan menggunakan waterbath sampai larut sepenuhnya. HPMC dikembangkan dengan aquadest dingin sambil diaduk terus-menerus hingga mengembang dengan baik. Metilparaben dan propilparaben dilarutkan dalam propilenglikol. Semua bahan kemudian dicampurkan secara bertahap dan diaduk hingga merata. Ekstrak yang telah dilarutkan dalam aquades ditambahkan sedikit demi sedikit, lalu diaduk hingga homogen.<sup>67</sup>

#### 4.8.4 Persiapan Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan hewan uji berupa mencit jantan berusia 6-8 minggu dengan berat antara 25-30g. Mencit-mencit tersebut ditempatkan di ruangan dengan suhu sekitar 28-32°C dan ventilasi yang memadai. Selama satu minggu, mencit diadaptasi dan diberi makanan pelet dan air putih secukupnya.

Sampel diambil secara acak dari 30 ekor mencit dibagi menjadi 5 kelompok. Mencit-mencit ini ditempatkan dalam 5 kandang, yang terdiri dari kelompok kontrol sehat, kelompok kontrol negatif yang diberi *base gel*, kelompok kontrol positif dengan pemberian *sun block* SPF 30, kelompok yang diberi gel ekstrak *Catharanthus roseus* 15%, dan kelompok yang diberi gel ekstrak *Catharanthus roseus* 30%. Setiap kandang berisi 5+1 ekor mencit.

#### 4.8.5 Paparan UV-B sub kronik

- a) Mencit yang sudah diadaptasi selama 7 hari dibius menggunakan campuran ketamine (60mg/kgbb) dan xylazine (20mg/kgbb)
- b) Bulu di area punggung mencit dicukur dengan ukuran 3x3 cm hingga bersih.
- c) Punggung mencit terpapar sinar UV (broadband dengan puncak emisi 302 nm) dari jarak 20 cm, dengan dosis minimum eritem 0,5 J/cm<sup>2</sup> selama 10 menit setiap hari selama 14 hari.
- d) Mencit yang menerima perlakuan K4 dan K5 diberikan perlakuan topikal dengan gel ekstrak *Catharanthus roseus* 15% dan 30%, yang dioleskan satu kali sehari satu jam setelah penyinaran UV-B.
- e) Validasi densitas kolagen pada hewan model dipapar UV-B kronik dilakukan pada hari ke-15 dengan pengamatan makroskopis dan menggunakan pewarnaan *Masson trichrome*.

#### 4.8.6 Prosedur Pengambilan Serum Darah Mencit

Pengambilan sampel darah dilakukan setelah seluruh perlakuan penelitian selesai di hari ke 14, dengan memperhatikan prinsip kesejahteraan hewan laboratorium dan protokol etika penelitian hewan yang telah disetujui oleh Komite Etik Penelitian Hewan [cantumkan nama institusi dan nomor persetujuan etis bila tersedia].

1. Mencit ditimbang untuk memastikan kondisi fisiologisnya stabil.  
Peralatan yang digunakan, seperti kapiler heparin, tabung mikro, dan sentrifus, disterilkan terlebih dahulu.

2. Sebelum pengambilan darah, mencit dianestesi ringan menggunakan eter atau isofluran di bawah pengawasan tenaga berkompeten, untuk meminimalkan stres dan rasa nyeri.
3. Darah diambil melalui sinus orbitalis menggunakan kapiler mikro (*hematokrit capillary tube*). Kapiler dimasukkan secara hati-hati pada sudut mata bagian medial hingga mengenai pleksus vena retro-orbital, kemudian darah akan mengalir masuk ke dalam kapiler. Volume darah yang diambil disesuaikan dengan batas aman pengambilan, umumnya tidak lebih dari 1% dari berat badan mencit per kali pengambilan.
4. Darah yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabung mikro tanpa antikoagulan, lalu dibiarkan pada suhu ruang selama  $\pm 30$  menit agar menggumpal secara alami. Setelah itu, sampel disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan serum.
5. Serum jernih yang terbentuk dipisahkan secara hati-hati menggunakan mikropipet, kemudian dimasukkan ke dalam tabung eppendorf bersih dan disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  atau  $-80^{\circ}\text{C}$  hingga waktu analisis.
6. Semua limbah biologis dan peralatan bekas pengambilan darah dibuang sesuai prosedur biosafety. Hewan yang telah selesai diambil darahnya dipantau hingga sadar penuh (bila tidak

dilakukan terminasi) atau dilakukan eutanasia humanis sesuai pedoman etika jika diperlukan.

#### 4.8.6 Pengambilan Sampel Jaringan Kulit Mencit

Setelah perlakuan diberikan pada hari ke-14, hari ke 15 dilakukan pengambilan jaringan. Semua mencit dimatikan terlebih dahulu melalui proses pembiusan. Sayatan jaringan dibuat pada area kulit yang terpapar UV-B, menggunakan gunting dan pinset. Sampel jaringan dipotong dan kemudian dicampur dengan PBS (pH 7,4). Selanjutnya, sampel jaringan dihomogenisasi dalam kondisi dingin pada suhu 4°C, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 2000-3000 rpm selama 20 menit. Supernatan, yaitu cairan hasil sentrifugasi yang memiliki bobot jenis lebih rendah, diambil dan digunakan sebagai sampel uji. Jika sampel perlu disimpan, maka dapat disimpan pada suhu -20°C.

#### 4.8.7 Prosedur Analisis Densitas Kolagen

Pemeriksaan densitas kolagen diukur melalui pengamatan histopatologi menggunakan mikroskop yang dilengkapi dengan camera/optilab. Gambar yang didapatkan kemudian diolah menggunakan software ImageJ untuk mengetahui persentase jumlah kolagen. Langkah-langkah pengecatan *Masson's Trichrome* merupakan teknik pewarnaan histologi yang digunakan untuk menyoroti kolagen pada jaringan, dengan prosedur sebagai berikut:

1. Proses penghilangan parafin dilakukan dengan cara menyelamkan preparat secara berturut-turut dalam Xylene, Alkohol absolut, Alkohol 96%, Alkohol 80%, Alkohol 70%, dan Aquabides selama kurang lebih 2 menit untuk setiap langkahnya.
2. Preparat kemudian ditempatkan dalam chamber kelembapan.
3. Reagen A ditambahkan pada preparat dengan jumlah yang sesuai, diikuti dengan penambahan reagen B dengan takaran yang sesuai pula. Setelah itu, chamber kelembapan ditutup.
4. Preparat didiamkan selama 10 menit.
5. Tanpa dibilas dengan air, cairan atau reagen pada preparat dibuang dan preparat dikeringkan secara singkat selama 5 detik.
6. Reagen C ditambahkan pada preparat dengan takaran yang sesuai dan didiamkan selama 4 menit.
7. Preparat kemudian dibilas dengan Aquabides selama beberapa detik (3-4 detik).
8. Reagen D ditambahkan pada preparat dengan jumlah yang tepat dan didiamkan selama 4 menit.
9. Preparat sekali lagi dibilas dengan Aquabides selama beberapa detik (3-4 detik).
10. Reagen E ditambahkan pada preparat dengan takaran yang sesuai dan didiamkan selama 10 menit.



11. Tanpa dibilas dengan air, cairan atau reagen pada preparat dibuang dan preparat dikeringkan secara singkat selama 5 detik.
12. Preparat kemudian ditambahkan dengan reagen F dengan jumlah yang tepat dan didiamkan selama 5 menit.
13. Preparat dibersihkan dengan Aquabides.
14. Proses dehidrasi dilakukan secara bertahap dengan menyelamkan preparat dalam Alkohol 70%, Alkohol 80%, dan Alkohol 96% secara cepat selama masing-masing 5-10 detik.
15. Proses dehidrasi dilanjutkan dengan merendam preparat dalam Alkohol absolut dan Xylene masing-masing selama 1 menit.
16. Proses mounting dilakukan.
17. Hasil pengecatan akan menunjukkan warna biru untuk kolagen.
18. Setiap preparat diamati menggunakan mikroskop dan diambil gambar pada lima lapangan pandang representatif dengan pembesaran yang sama, dipilih secara acak namun tetap berada pada area dermis.
19. Gambar dianalisis menggunakan ImageJ dengan metode color deconvolution untuk memisahkan warna kolagen (biru) dari komponen jaringan lainnya.
20. Persentase densitas kolagen dihitung berdasarkan luas area kolagen dibandingkan total area jaringan pada tiap lapangan pandang,

kemudian dirata-ratakan dari lima lapangan pandang untuk mendapatkan nilai akhir densitas kolagen.<sup>68</sup>

#### 4.8.8 Analisis kadar IL-10 serum mencit dengan Metode ELISA

Penentuan kadar Interleukin-10 (IL-10) dilakukan menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dengan menggunakan BT LAB Mouse IL-10 ELISA Kit berdasarkan petunjuk teknis dari produsen. Sampel yang dianalisis berupa serum darah mencit, yang diperoleh melalui pengambilan darah dari sinus orbitalis setelah seluruh perlakuan eksperimental selesai. Darah yang dikumpulkan kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan serum dari komponen seluler. Serum jernih yang diperoleh disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  hingga waktu pemeriksaan, guna mempertahankan stabilitas protein sitokin.

Tahapan analisis ELISA meliputi:

1. Sebanyak 100  $\mu\text{L}$  serum sampel atau larutan standar dimasukkan ke dalam sumur mikrotiter yang telah dilapisi antibodi penangkap spesifik terhadap IL-10.
2. Sampel diinkubasi sesuai waktu yang tercantum dalam protokol kit, kemudian dilakukan pencucian untuk menghilangkan komponen yang tidak berikatan.
3. Selanjutnya, antibodi konjugat berlabel enzim horseradish peroxidase (HRP) ditambahkan ke setiap sumur.

4. Setelah tahap inkubasi kedua dan proses pencucian, ditambahkan substrat kromogenik Tetramethylbenzidine (TMB) untuk menghasilkan reaksi warna.
5. Reaksi dihentikan dengan larutan penghenti (stop solution) sehingga warna berubah menjadi kuning.
6. Intensitas warna yang terbentuk diukur menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 450 nm.
7. Nilai absorbansi yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan kurva standar IL-10 untuk menentukan konsentrasi IL-10 dalam sampel serum.

#### 4.9 Tempat dan Waktu Penelitian

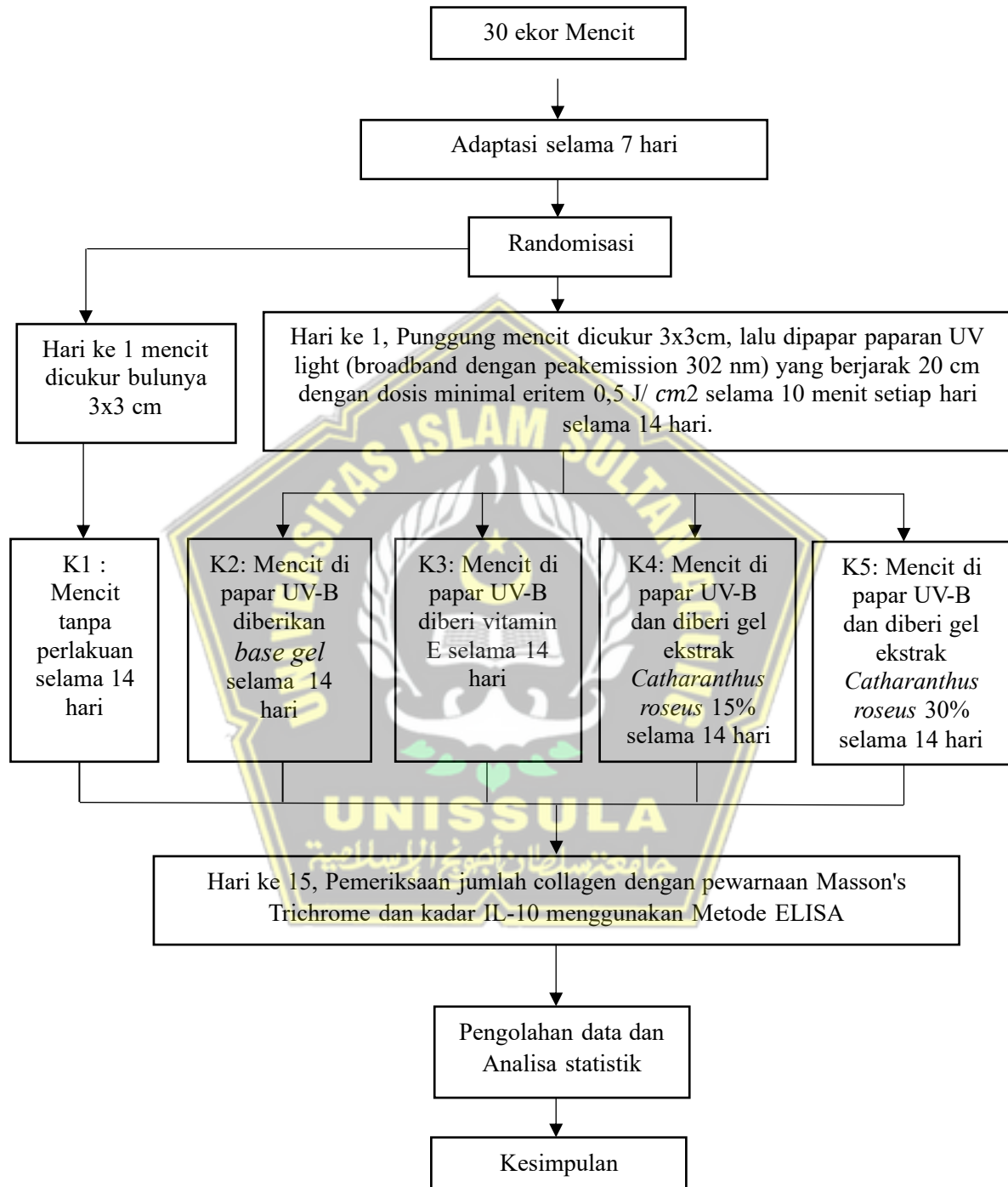
Penelitian ini telah dilaksanakan di dua lokasi laboratorium dengan tahapan yang berbeda. Proses ekstraksi bunga tapak dara (*Catharanthus roseus*) dilakukan di Laboratorium Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Semarang, sedangkan perlakuan hewan coba serta analisis biokimia dan histologis dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang. Pengukuran kadar Interleukin-10 (IL-10) dilakukan menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dengan kit komersial BT LAB Mouse IL-10 ELISA Kit, sedangkan pengamatan densitas kolagen kulit dilakukan melalui pewarnaan jaringan dengan metode *Masson's Trichrome*. Seluruh rangkaian penelitian ini dilaksanakan pada periode Agustus hingga November 2025.

#### 4.10 Analisa Data

Analisis data diawali dengan uji statistik deskriptif, kemudian dilanjutkan dengan pengujian asumsi normalitas menggunakan uji Shapiro–Wilk ( $p > 0,05$ ) serta uji homogenitas varians menggunakan uji *Levene* ( $p > 0,05$ ). Berdasarkan hasil pengujian tersebut, kadar IL-10 menunjukkan distribusi data yang normal dan varians yang homogen, sehingga analisis perbedaan antar kelompok dilakukan menggunakan uji parametrik One Way ANOVA ( $p < 0,05$ ). Uji ini kemudian diteruskan dengan Post Hoc LSD untuk mengevaluasi perbedaan antar dua kelompok perlakuan.

Sebaliknya, variabel densitas kolagen menunjukkan distribusi data yang tidak normal meskipun varians antar kelompok homogen. Oleh karena itu, analisis perbedaan antar kelompok dilakukan menggunakan uji non-parametrik Kruskal–Wallis. Hasil uji *Kruskal–Wallis* yang signifikan kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann–Whitney* untuk mengidentifikasi kelompok mana yang berbeda secara statistik. Seluruh proses analisis dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS dengan tingkat signifikansi yang ditetapkan sebesar 5%.

#### 4.11 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Skema alur penelitian

## BAB V

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 5.1 Hasil Penelitian

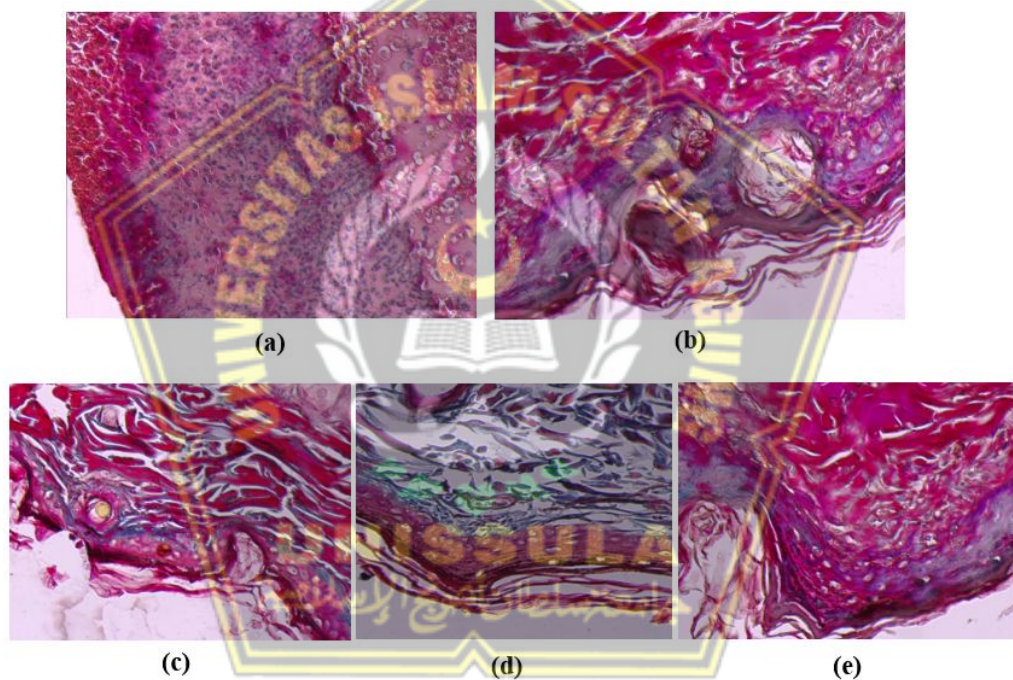
Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vivo* yang dilaksanakan pada bulan Agustus hingga November 2025 di dua lokasi, yaitu di Laboratorium Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFAR) Semarang untuk proses ekstraksi bunga *Catharanthus roseus* dan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang untuk perlakuan hewan coba serta analisis kadar Interleukin-10 (IL-10) dan densitas kolagen kulit. Sampel penelitian menggunakan mencit jantan galur C57BL/6 yang dibagi ke dalam lima kelompok, yaitu: kelompok kontrol sehat tanpa paparan UV-B (K1), kelompok mencit terpapar UV-B dan diberi basis gel (K2), kelompok mencit terpapar UV-B dan diberi vitamin E (K3), kelompok mencit terpapar UV-B dan diberi gel ekstrak *Catharanthus roseus* dosis 15% (K4), serta kelompok mencit terpapar UV-B dan diberi gel ekstrak *Catharanthus roseus* dosis 30% (K5).

Hasil penelitian meliputi analisis kadar IL-10 menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dan pengamatan densitas kolagen dermis dengan pewarnaan jaringan *Masson's Trichrome*. Data hasil pengukuran disajikan dalam bentuk tabel, grafik, dan foto mikroskopik, yang kemudian diinterpretasikan dan dibandingkan antar kelompok perlakuan.



### 5.1.1 Hasil pemeriksaan Mikroskopis Densitas kolagen jaringan kulit dengan pewarnaan *Masson's Trichrome*

Pewarnaan *Masson's Trichrome* digunakan untuk mengevaluasi densitas kolagen, di mana serabut kolagen tampak berwarna biru keunguan atau biru tua, sedangkan jaringan non-kolagen dan sitoplasma tampak berwarna merah muda. Perbedaan intensitas warna biru menggambarkan variasi kepadatan kolagen pada masing-masing kelompok perlakuan.



Gambar 5.1 Histologi densitas kolagen dengan pewarnaan *Masson Tricrome* pada tiap kelompok

Gambar 5.1 menunjukkan hasil pewarnaan *Masson's Trichrome* pada jaringan kulit mencit dari lima kelompok perlakuan. (a) Kelompok K1 merupakan kontrol sehat tanpa paparan sinar UV-B dan tanpa pemberian gel. (b) Kelompok K2 terdiri atas mencit yang dipaparkan sinar UV-B dan diberikan *base gel*. (c) Kelompok K3 merupakan mencit yang dipaparkan sinar UV-B dan diberikan

vitamin E. (d) Kelompok K4 adalah mencit yang dipaparkan sinar UV-B dan diberi gel ekstrak *Catharanthus roseus* dosis 15%, sedangkan (d) kelompok K5 merupakan mencit yang dipaparkan sinar UV-B dan diberi gel ekstrak *Catharanthus roseus* dosis 30% selama 14 hari.

Hasil pengukuran menunjukkan adanya variasi densitas kolagen yang cukup jelas antar kelompok perlakuan (Tabel 5.1 dan Gambar 5.2). Kelompok K1 memiliki rerata densitas kolagen tertinggi yaitu  $23,47 \pm 4,02\%$ , sedangkan K2 menunjukkan nilai paling rendah dengan  $10,60 \pm 1,32\%$ . Kelompok K3, K4, dan K5 berada pada rentang nilai menengah, masing-masing  $11,87 \pm 4,01\%$ ,  $17,80 \pm 2,52\%$ , dan  $21,60 \pm 2,43\%$ . Pola ini juga tampak konsisten pada grafik, di mana distribusi nilai individual menunjukkan kecenderungan yang sejalan dengan perbedaan rerata tersebut.

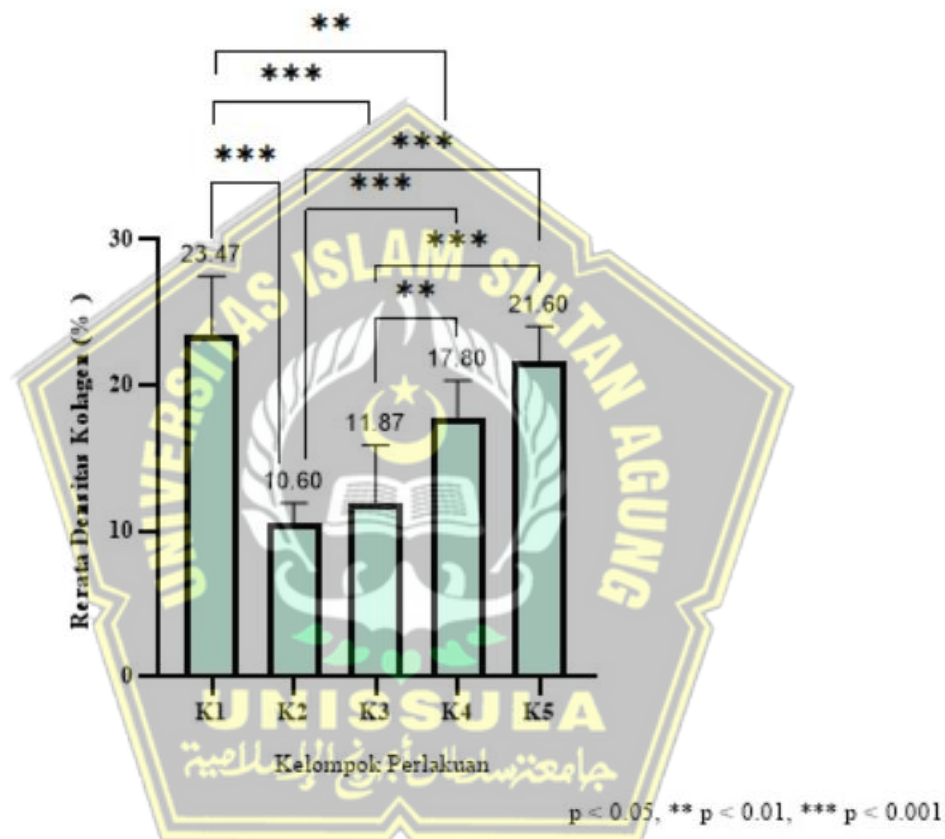
Tabel 5.1 Hasil uji deskriptif rerata densitas kolagen (%) dan uji *One way Anova* setelah hari ke 14 perlakuan

Kelompok	K1	K2	K3	K4	K5	<i>P</i> value
Mean	23,47	10,60	11,87	17,80	21,60	
SD	4,02	1,32	4,01	2,52	2,43	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,210*	0,447*	0,316*	0,723*	0,451*	
<i>Leuvene Test</i>						0,102*
<i>Kruskal Wallis</i>						0,000*

Keterangan: \* *Shapiro-Wilk* = Normal ( $p > 0,05$ )  
 \* *Leuvene Test* = Normal ( $p > 0,05$ )  
 \* *One way Anova* = Signifikan ( $p < 0,05$ )

Uji normalitas Shapiro–Wilk menunjukkan bahwa seluruh kelompok memiliki distribusi data normal ( $p > 0,05$ ), sedangkan hasil Levene Test menunjukkan varians antarkelompok homogen ( $p = 0,102$ ). Berdasarkan terpenuhinya asumsi normalitas dan homogenitas, analisis dilanjutkan

menggunakan uji Kruskal–Wallis sebagaimana ditetapkan pada desain penelitian, dan hasilnya menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar kelompok ( $p = 0,000$ ). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa perlakuan memberikan pengaruh signifikan terhadap densitas kolagen pada hari ke-14.



Gambar 5.2 Grafik rerata densitas kolagen (%) tiap kelompok

Uji lanjut Mann–Whitney (Tabel 5.2) menunjukkan pola perbedaan yang jelas antar kelompok perlakuan. Kelompok K1 memiliki perbedaan signifikan terhadap K2 ( $p = 0,000$ ), K3 ( $p = 0,000$ ) dan K4 ( $p = 0,008$ ), namun tidak berbeda signifikan dengan K5 ( $p = 0,344$ ). Hal ini mengindikasikan bahwa respons densitas kolagen pada K5 lebih mendekati K1 dibandingkan kelompok lainnya.

Kelompok K2 tidak menunjukkan perbedaan signifikan dengan K3 ( $p = 0,518$ ), tetapi berbeda nyata dengan K4 ( $p = 0,001$ ) dan K5 ( $p = 0,000$ ). Sementara itu, kelompok K3 juga berbeda signifikan dengan K4 ( $p = 0,006$ ) dan K5 ( $p = 0,000$ ), menandakan adanya peningkatan densitas kolagen pada terapi yang diberikan dibandingkan kelompok tanpa perbaikan. Perbandingan antara K4 dan K5 tidak menunjukkan perbedaan signifikan ( $p = 0,062$ ), sehingga kedua kelompok ini memiliki tingkat densitas kolagen yang relatif berdekatan.

Tabel 5.2 Uji *Mann Whitney* terhadap densitas kolagen (%) pada tiap kelompok

Kelompok		p (value)
K1	K2	0.000*
	K3	0.000*
	K4	0.008*
	K5	0.344*
K2	K3	0.518
	K4	0.001*
	K5	0.000*
K3	K4	0.006*
	K5	0.000*
K4	K5	0.062

Keterangan:

$p < 0,05$  = berbeda signifikan (\*)

Secara keseluruhan, hasil uji *Mann-Whitney* mengonfirmasi bahwa perlakuan memberikan respons yang bervariasi pada densitas kolagen kulit. Kelompok dengan nilai terendah (K2) berbeda signifikan dari sebagian besar kelompok lainnya, menunjukkan dampak kerusakan kolagen akibat kondisi perlakuan dasar. Sebaliknya, kelompok K5 yang tidak berbeda dari K1 mengindikasikan perbaikan densitas kolagen yang lebih optimal. Temuan ini memperkuat bahwa intervensi yang diberikan mampu meningkatkan densitas kolagen secara signifikan, terutama pada kelompok dengan respons terbaik,

sehingga berpotensi sebagai agen yang protektif maupun reparatif terhadap penurunan densitas kolagen.

### 5.1.2 Hasil pemeriksaan Kadar IL-10 serum darah mencit setelah hari ke 14 perlakuan

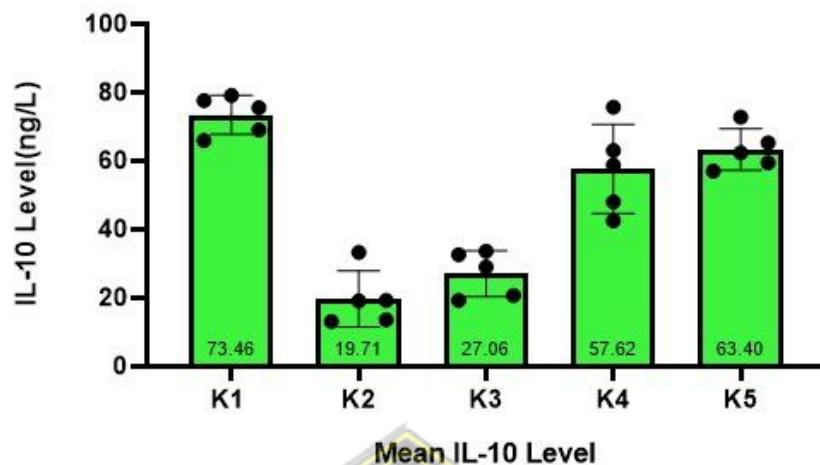
Hasil analisis rerata Kadar IL-10 setelah hari ke 14 perlakuan pada masing-masing kelompok penelitian ditunjukkan pada tabel 5.2 sebagai berikut:

Tabel 3. 1 Hasil uji deskriptif rerata kadar IL-10 (pg/mL) dan *Oneway anova* tiap kelompok

Kelompok	K1	K2	K3	K4	K5	<i>P</i> <i>value</i>
Mean	73,46	19,71	27,06	57,62	63,40	
SD	5,68	8,14	6,70	13,01	6,09	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,441*	0,121*	0,230*	0,892*	0,714*	
<i>Leuvene Test</i>						0,329*
<i>One way anova</i>						0,000*
Keterangan: * <i>Shapiro-Wilk</i> = Normal ( $p > 0,05$ )						
* <i>Leuvene Test</i> = Normal ( $p > 0,05$ )						
* <i>One way anova</i> = Signifikan ( $p < 0,05$ )						

Hasil pengukuran disajikan pada Tabel 5.2. Uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan seluruh kelompok memiliki nilai  $p > 0,05$  (K1 = 0,441; K2 = 0,121; K3 = 0,230; K4 = 0,892; dan K5 = 0,714), sehingga data dinyatakan berdistribusi normal. Hasil uji *Levene Test* juga menunjukkan nilai  $p = 0,329$  ( $p > 0,05$ ), menandakan bahwa varians antar kelompok homogen dan memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik. Selanjutnya, hasil uji One-Way Anova menunjukkan nilai  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ), yang berarti terdapat perbedaan bermakna kadar IL-10 antar kelompok perlakuan.





Gambar 5. 3 Grafik rerata Kadar IL-10 (pg/mL) tiap kelompok

Kelompok kontrol sehat (K1) memiliki kadar IL-10 tertinggi yaitu  $73,46 \pm 5,68$  pg/mL, menandakan kondisi jaringan kulit normal tanpa stres oksidatif akibat paparan sinar UV-B. Sebaliknya, kelompok mencit yang terpapar UV-B dan hanya diberi base gel (K2) menunjukkan kadar IL-10 paling rendah ( $19,71 \pm 8,14$  pg/mL), pemberian vitamin E (K3) sedikit lebih tinggi ( $27,06 \pm 6,70$  pg/mL) dibanding K2, namun belum mencapai normal. Kelompok yang diberikan gel ekstrak *Catharanthus roseus* menunjukkan kadar IL-10 yang lebih tinggi dibanding kelompok lain yang terpapar UV-B, dosis 15% (K4), kadar IL-10 mencapai  $57,62 \pm 13,01$  pg/mL, dan lebih tinggi pada dosis 30% (K5) menjadi  $63,40 \pm 6,09$  pg/mL.

Kadar IL-10 lebih tinggi pada kelompok K4 dan K5 menunjukkan adanya aktivitas antiinflamasi dari senyawa bioaktif dalam *Catharanthus roseus* seperti flavonoid, alkaloid, dan saponin yang dapat menekan stres oksidatif akibat radiasi UV-B. Pemberian gel ekstrak *Catharanthus roseus* mampu meningkatkan kadar IL-10 secara signifikan sehingga dapat melindungi kulit dari proses inflamasi yang diinduksi paparan UV-B subkronik.



Hasil uji *Post Hoc LSD* menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar beberapa kelompok perlakuan terhadap kadar IL-10 (Tabel 5.3). Kelompok kontrol sehat (K1) memiliki kadar IL-10 yang secara signifikan lebih tinggi dibanding kelompok K2 ( $p = 0,000$ ), K3 ( $p = 0,000$ ), dan K4 ( $p = 0,007$ ), namun tidak berbeda bermakna dengan kelompok K5 ( $p = 0,072$ ). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian gel ekstrak *Catharanthus roseus* dosis 30% (K5) mampu mempertahankan kadar IL-10 mendekati kondisi normal.

Tabel 5. 3 Uji *Post Hoc LSD* Kadar IL-10 (pg/mL) pada tiap kelompok

Kelompok		Sig.	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
K1	K2	0,000*	42,71	64,79
	K3	0,000*	35,36	57,44
	K4	0,007*	4,79	26,87
	K5	0,072	-0,98	21,10
K2	K3	0,180	-18,39	3,69
	K4	0,000*	-48,95	-26,88
	K5	0,000*	-54,73	-32,66
K3	K4	0,000*	-41,60	-19,53
	K5	0,000*	-47,38	-25,30
K4	K5	0,288	-16,82	5,26

Keterangan:

$p < 0,05$  = berbeda signifikan (\*)

Kadar IL-10 pada kelompok K4 (gel 15%) dibandingkan K5 (gel 30%)

berbeda signifikan dibanding kelompok K2 (base gel) dan K3 (vitamin E) dengan nilai  $p < 0,001$ . Namun, tidak ditemukan perbedaan bermakna antara K4 dan K5 ( $p = 0,288$ ), yang mengindikasikan bahwa peningkatan dosis gel dari 15% menjadi 30% tidak memberikan perbedaan signifikan secara statistik, meskipun secara deskriptif menunjukkan kadar IL-10 lebih tinggi. Hasil ini menegaskan bahwa gel ekstrak *Catharanthus roseus* memiliki efek antiinflamasi dan imunomodulator yang lebih tinggi dalam meningkatkan kadar IL-10 pada mencit pasca paparan sinar

UV-B subkronik pada dosis 30%.

## 5.2 Pembahasan

Densitas kolagen merupakan salah satu indikator utama integritas dermis dan dipengaruhi secara signifikan oleh paparan sinar UV-B. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa paparan UV-B subkronik selama 14 hari mengakibatkan penurunan densitas kolagen, khususnya pada kelompok yang tidak mendapatkan agen protektif antioksidan. Paparan UV-B subkronik menyebabkan penurunan densitas kolagen yang jelas pada kelompok K2 yang dipapar UVB dan diberikan base gel, yang merupakan nilai terendah di antara seluruh kelompok perlakuan. Kerusakan kolagen pada K2 sesuai dengan mekanisme biologis di mana UV-B meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) dan mengaktifasi jalur NF- $\kappa$ B dan AP-1 sehingga memicu ekspresi MMP-1 dan MMP-3, dua enzim utama perusak kolagen dermis.<sup>69,70</sup> Penurunan kolagen akibat UV-B tidak hanya disebabkan oleh meningkatnya degradasi kolagen, tetapi menurunnya sintesis kolagen baru. Hal ini sejalan dengan teori bahwa kulit yang terpapar UV mengalami penurunan aktivitas fibroblas dan gangguan keseimbangan redoks yang memengaruhi stabilitas jaringan ikat.<sup>71</sup>

Kelompok K3, K4, dan K5 menunjukkan peningkatan densitas kolagen dibanding K2, yang menandakan adanya efek reparatif dari vitamin E maupun ekstrak *Catharanthus roseus*. Pada K3, vitamin E bertindak sebagai antioksidan lipofilik yang menetralkan ROS dan menghambat aktivasi MMP.<sup>72</sup> Penelitian melaporkan bahwa vitamin E topikal dapat mengurangi kerusakan kolagen akibat UV melalui stabilisasi membran dan penghambatan stres oksidatif.<sup>73</sup>

Kelompok K4 dan K5 menunjukkan densitas lebih tinggi, ekstrak *Catharanthus roseus* mengandung flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan fenol yang memiliki aktivitas antioksidan kuat.<sup>74</sup> Senyawa ini bekerja melalui aktivasi jalur Nrf2 yang meningkatkan enzim antioksidan seperti SOD, GPx, dan katalase, sehingga menurunkan ROS dan menghambat aktivasi MMP.<sup>45</sup>

Ketidaksignifikanan perbedaan densitas kolagen antara K2 (base gel) dan K3 (vitamin E) menunjukkan bahwa vitamin E belum memberikan stimulasi kolagen yang bermakna dibandingkan efek dasar pelembap dari base gel. Hal ini sejalan dengan laporan bahwa vitamin E terutama bekerja sebagai antioksidan dan tidak secara langsung atau cepat meningkatkan aktivitas fibroblas maupun deposisi kolagen pada fase awal terapi. Efek peningkatan kolagen oleh vitamin E cenderung minimal bila digunakan sebagai monoterapi, terutama pada durasi aplikasi yang pendek.<sup>73</sup>

Ketidaksignifikanan perbedaan densitas kolagen antara K5 dan K1 menunjukkan bahwa perlakuan pada K5 mampu memulihkan kolagen hingga mendekati kondisi fisiologis normal, sehingga secara statistik tidak berbeda dari kelompok kontrol sehat. Temuan ini menandakan bahwa dosis/intervensi pada K5 memiliki efek reparatif yang kuat dalam mengatasi kerusakan kolagen.

Peningkatan dosis atau potensi bahan aktif pada K5 menghasilkan respons penyembuhan yang lebih optimal dibandingkan K4. Secara biologis, hal ini sejalan dengan konsep bahwa sintesis kolagen bersifat dose-dependent, dimana konsentrasi bahan aktif yang lebih tinggi mampu meningkatkan aktivitas fibroblas, mempercepat pembentukan matriks kolagen baru, dan menekan stres oksidatif

dengan lebih efektif. Teori pendukung menjelaskan bahwa fibroblas merespons keberadaan antioksidan dan agen bioaktif dengan meningkatkan produksi kolagen, namun respons tersebut lebih kuat pada dosis yang mencukupi. Karena itu, K4 yang mendapat dosis lebih rendah belum mencapai efek maksimal, sedangkan K5 mampu meningkatkan perbaikan jaringan hingga menyerupai kondisi normal. K5 menunjukkan efektivitas terapeutik tertinggi, terlihat dari densitas kolagen yang setara kontrol (K1) dan hasil perbaikan yang lebih dibandingkan dibandingkan K4.<sup>72</sup>

Hasil penelitian terhadap kadar IL-10 pada kelompok kontrol sehat tidak berbeda signifikan dengan kelompok yang diberi gel ekstrak *Catharanthus roseus* dosis 30%. Pemberian gel ekstrak *Catharanthus roseus* dosis tinggi mampu mengembalikan kadar IL-10 hingga mendekati kondisi fisiologis normal. Kelompok K5 menunjukkan efek pemulihan yang setara dengan kelompok kontrol tanpa paparan UV-B. Penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa peningkatan kadar IL-10 berperan dalam menghambat aktivasi jalur inflamasi akibat stres oksidatif dan mendukung regenerasi jaringan melalui regulasi fibroblas dermis.<sup>75</sup> Hasil tersebut memperkuat dugaan bahwa senyawa aktif *Catharanthus roseus* seperti flavonoid dan alkaloid memiliki kemampuan antioksidan yang efektif dalam mempertahankan kadar IL-10 dan menekan respon inflamasi akibat paparan sinar UV-B.<sup>74</sup>

Kelompok yang mendapat perlakuan vitamin E menunjukkan kadar IL-10 yang tidak berbeda signifikan dibanding kelompok base gel. Kondisi tersebut menggambarkan bahwa vitamin E memberikan efek peningkatan IL-10 yang relatif

kecil setelah paparan UV-B. Efektivitas vitamin E sebagai antioksidan topikal bergantung pada stabilitas dan kemampuan penetrasi senyawa terhadap jaringan kulit.<sup>72</sup> Studi melaporkan bahwa vitamin E dapat mengurangi kerusakan akibat radiasi UV, namun efeknya sering kali tidak konsisten karena aktivitasnya terbatas pada lapisan epidermis.<sup>76</sup> Hasil ini mengindikasikan bahwa vitamin E belum cukup kuat dalam menstimulasi peningkatan IL-10 dibanding bahan aktif kompleks seperti ekstrak *Catharanthus roseus*, yang mengandung kombinasi senyawa bioaktif dengan mekanisme antiinflamasi sinergis.<sup>77</sup>

Perbandingan antara kelompok gel ekstrak *Catharanthus roseus* dosis 15% (K4) dan dosis 30% (K5) menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna. Hasil tersebut menandakan bahwa peningkatan dosis dari 15% menjadi 30% tidak menghasilkan peningkatan kadar IL-10 yang signifikan. Fenomena ini kemungkinan terjadi karena efek stimulasi telah mencapai ambang maksimum, sehingga peningkatan dosis tidak lagi menimbulkan perubahan bermakna secara statistik.<sup>78</sup> Penelitian menjelaskan bahwa respon antiinflamasi terhadap ekstrak tanaman bersifat dosis-jenuh, di mana efektivitas optimal tercapai pada konsentrasi menengah.<sup>79</sup> Kondisi tersebut mungkin berlaku pada ekstrak *Catharanthus roseus*, di mana dosis 15% sudah cukup untuk mengaktifkan mekanisme peningkatan IL-10 tanpa memerlukan peningkatan konsentrasi lebih lanjut.

Peningkatan kadar IL-10 pada kelompok K4 dan K5 menunjukkan kemampuan gel ekstrak *Catharanthus roseus* dalam menekan proses inflamasi akibat paparan UV-B. Senyawa flavonoid dan saponin dalam *Catharanthus roseus* berperan sebagai antioksidan yang menurunkan produksi ROS dan menghambat



ekspresi enzim MMP, sehingga proses degradasi kolagen dapat dicegah.<sup>77</sup> Penelitian membuktikan bahwa IL-10 memiliki fungsi protektif terhadap jaringan dermis melalui mekanisme penghambatan sitokin proinflamasi dan peningkatan aktivitas fibroblas.<sup>80</sup>

Hasil penelitian menunjukkan bahwa gel ekstrak *Catharanthus roseus* memberikan efek imunomodulator yang signifikan terhadap peningkatan kadar IL-10. Gel dengan dosis 30% menunjukkan kemampuan paling optimal dalam memulihkan kadar IL-10 hingga mendekati kondisi normal tanpa paparan UV-B. Efek tersebut mendukung potensi *Catharanthus roseus* sebagai bahan aktif alami dengan aktivitas antioksidan dan antiinflamasi untuk perlindungan kulit terhadap kerusakan akibat sinar UV-B.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan. Rentang dosis gel ekstrak *Catharanthus roseus* yang digunakan masih terbatas pada dua konsentrasi sehingga belum menggambarkan hubungan dosis-respon secara menyeluruh. Mekanisme kerja ekstrak terhadap peningkatan kadar IL-10 dan densitas kolagen belum dikaji pada tingkat molekuler, seperti ekspresi gen TGF- $\beta$  atau MMP. Identifikasi senyawa bioaktif utama dalam ekstrak juga belum dilakukan, sehingga komponen yang paling berperan dalam efek antiinflamasi dan regeneratif belum dapat ditentukan secara spesifik.

Penelitian ini memiliki keterbatasan dimana variasi data pada kelompok perlakuan, terutama K2 dan K3, cukup tinggi sehingga rentang nilai antar kelompok saling tumpang tindih dan mengurangi kemampuan analisis statistik dalam mendeteksi perbedaan yang bermakna. Selain itu, penelitian ini tidak menyertakan



kelompok yang hanya dipapar UV-B tanpa intervensi sehingga perbedaan efek antar K2, K3, dan K4 tidak signifikan, meskipun secara deskriptif terdapat peningkatan dari K2 hingga K4. Keterbatasan ini berkontribusi terhadap tidak ditemukannya perbedaan signifikan antar kelompok, walaupun hasil penelitian menunjukkan adanya pola perbaikan bertahap.



## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1. Kesimpulan

1. Pemberian gel ekstrak *Catharanthus roseus* berpengaruh terhadap densitas kolagen dan kadar IL-10 pada kulit mencit yang terpapar sinar UV-B subkronik.
2. Terdapat pengaruh peningkatan densitas kolagen pada model mencit pasca terpapar sinar UV-B secara subkronik yang diberikan gel ekstrak *Catharanthus roseus*.
3. Terdapat pengaruh peningkatan kadar IL-10 pada model mencit pasca terpapar sinar UV-B secara subkronik yang diberikan gel ekstrak *Catharanthus roseus*.

#### 6.2. Saran

1. Perlu ditambahkan kelompok kontrol yang hanya dipapar UV-B tanpa intervensi, sehingga tingkat kerusakan kolagen akibat paparan UV-B murni dapat diketahui dengan lebih akurat dan dapat menjadi pembanding yang lebih jelas terhadap kelompok perlakuan.
2. Melakukan kontrol prosedur yang lebih ketat, sehingga rentang nilai tidak saling tumpang tindih dan analisis statistik dapat mendeteksi perbedaan bermakna antar kelompok secara lebih sensitif.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Cavinato M, Jansen-Dürr P. Molecular mechanisms of UVB-induced senescence of dermal fibroblasts and its relevance for photoaging of the human skin. *Exp Gerontol*. 2017;94:78-82. doi:10.1016/j.exger.2017.01.009
2. Reilly DM, Lozano J. Skin collagen through the lifestages: importance for skin health and beauty. *Plast Aesthet Res*. 2021;8:2. doi:10.20517/2347-9264.2020.153
3. Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Photoaging: UV radiation-induced inflammation and immunosuppression accelerate the aging process in the skin. *Inflammation Research*. 2022;71(7-8):817-831. doi:10.1007/s00011-022-01598-8
4. Hoang HT, Moon JY, Lee YC. Natural antioxidants from plant extracts in skincare cosmetics: Recent applications, challenges and perspectives. *Cosmetics*. 2021;8(4):1-24. doi:10.3390/cosmetics8040106
5. Al-bari A, Saputri RK, Jannah SR. Evaluasi Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus* L.) Sebagai Tabir Surya dalam Menghambat Pembentukan Eritema. *SEHATI: Jurnal Kesehatan*. 2023;3(1):30-34. doi:10.52364/sehati.v3i1.34
6. Bunyanis F, L.Ode W. Formulasi Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus*, (L) G. Don). *Journal of Health Educational Science And Technology*. 2023;6(1):39-46. doi:10.25139/htc.v6i1.5321
7. Andarina R, Djauhari T. Antioksidan dalam dermatologi. *JKK*. 2017;4(1):39-48.
8. Dewiastuti M, Hasanah IF. Pengaruh Faktor-Faktor Risiko Penuaan Dini Di Kulit Pada Remaja Wanita Usia 18-21 Tahun. *Jurnal Profesi Medika : Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. 2017;10(1):21-25. doi:10.33533/jpm.v10i1.10

9. Lovianie MM, Nurmanila S, Mustika M. Pengaruh Pemberian Sediaan Emulgel Kitosan-Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharantus Roseus* (L.) G. Don.) Dan Emulgel Kitosan-Ekstrak Kulit Pisang Ambon (*Musa Paradisiaca* L.) Untuk Penyembuhan Luka Bakar Pada Kelinci. *Jurnal Borneo Cendekia*. 2018;2(2):217-228. doi:10.54411/jbc.v2i2.127
10. Santhi AAWK. Pengaruh gel ekstrak daun tapak dara (*Catharanthus roseus*) terhadap kepadatan kolagen pada penyembuhan pasca luka insisi gingiva tikus Wistar(*Rattus norvegicus*). 2023;11(1):1-14.
11. Prabha Lahare Rajeshwari, Yadav HS, Dashahre AK, Kumar Bisen Y. An Updated Review on Phytochemical and Pharmacological Properties of *Catharanthus rosea*. *Saudi Journal of Medical and Pharmaceutical Sciences*. 2020;6(12):759-766. doi:10.36348/sjmps.2020.v06i12.007
12. Leny L, Situmorang TNK, Siagian R, Hafiz I, Iskandar B. Ointment Formulation of Tapak Dara (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don) Flower Ethanol Extract and its Activity in Burn-Healing. *Borneo Journal of Pharmacy*. 2023;6(2):182-189. doi:10.33084/bjop.v6i2.3155
13. Tanveer MA, Rashid H, Tasduq SA. Molecular basis of skin photoaging and therapeutic interventions by plant-derived natural product ingredients: A comprehensive review. *Heliyon.Elsevier Ltd.* 2023;9(3). doi:10.1016/j.heliyon.2023.e13580
14. Al-Shmgani HSA, Mohammed WH, Sulaiman GM, Saadoon AH. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Catharanthus roseus* leaf extract and assessing their antioxidant, antimicrobial, and wound-healing activities. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2017;45(6):1234-1240. doi:10.1080/21691401.2016.1220950
15. Putri NPAMMC. Bioaktivitas topikal gel ekstrak daun tapak dara (*Catharanthus roseus* L.) terhadap ekspresi TNF- $\alpha$  pada penyembuhan traumatic mukosa oral mencit (*Mus musculus*). Published online 2023. <http://scioteca.caf.com/bitstream/handle/123456789/1091/RED2017-Eng->

8ene.pdf?sequence=12&isAllowed=y%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.regsciurbeco.2008.06.005%0Ahttps://www.researchgate.net/publication/305320484\_SISTEM\_PEMBETUNGAN\_TERPUSAT\_STRATEGI\_MELESTARI

16. Kabubii ZN, Mbaria JM, Mbaabu M. Acute toxicity studies of Catharanthus roseus aqueous extract in male Wistar rats. *African Journal of Pharmacology and Therapeutics Vol 4 No 4 Pages 130-134, 2015 Open Access to full text available at <http://journals.uonbi.ac.ke/ajpt>*. 2015;4(4):130-134.
17. Satish AM, M. K J, Gangadhar TV, Ramu R. Evaluation of Wound Healing Activity of Catharanthus Roseus Aqueous Extract in Adult Albino Rats. *Int J Life Sci Pharma Res.* 2021;11(2):146-152. doi:10.22376/ijpbs/lpr.2021.11.2.p146-152
18. Sorushanova A, Delgado LM, Wu Z, et al. The Collagen Suprafamily: From Biosynthesis to Advanced Biomaterial Development. *Advanced Materials.* 2019;31(1):1-39. doi:10.1002/adma.201801651
19. Bella J. Collagen structure: New tricks from a very old dog. *Biochemical Journal.* 2016;473(8):1001-1025. doi:10.1042/BJ20151169
20. Yamauchi M, Sricholpech M. Lysine post-translational modifications of collagen. *Essays Biochem.* 2012;52:113-133. doi:10.1042/bse0520113
21. Karsdal MA, Nielsen SH, Leeming DJ, et al. The good and the bad collagens of fibrosis – Their role in signaling and organ function. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017;121:43-56. doi:10.1016/j.addr.2017.07.014
22. Shoulders MD, Raines RT. Collagen structure and stability. *Annu Rev Biochem.* 2009;78:929-958. doi:10.1146/annurev.biochem.77.032207.120833
23. Doyle BB, Hukins DWL, Hulmes DJS, Miller A, Woodhead-Galloway J. Collagen polymorphism: Its origins in the amino acid sequence. *J Mol Biol.* 1975;91(1):79-99. doi:10.1016/0022-2836(75)90373-3

24. Gjaltema RAF, Bank RA. Molecular insights into prolyl and lysyl hydroxylation of fibrillar collagens in health and disease. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2017;52(1):74-95. doi:10.1080/10409238.2016.1269716
25. Revell CK, Jensen OE, Shearer T, Lu Y, Holmes DF, Kadler KE. Collagen fibril assembly: New approaches to unanswered questions. *Matrix Biol Plus.* 2021;12:100079. doi:10.1016/j.mbplus.2021.100079
26. Cho S, Lee MJ, Kim MS, et al. Infrared plus visible light and heat from natural sunlight participate in the expression of MMPs and type I procollagen as well as infiltration of inflammatory cell in human skin in vivo. *J Dermatol Sci.* 2008;50(2):123-133. doi:10.1016/j.jdermsci.2007.11.009
27. Ganceviciene R, Liakou AI, Theodoridis A, Makrantonaki E, Zouboulis CC. Cilt yaşlanma karşıtı stratejiler-Skin anti-aging strategies. *Dermatoendocrinol.* 2012;4(3):308-319.
28. Huertas MAC, Schmelzer CEH, Hoehenwarter W, Heyroth F, Heinz A. Molecular-level insights into aging processes of skin elastin. *Biochimie.* 2016;128-129:163-173. doi:10.1016/j.biochi.2016.08.010
29. Saraiva M, Vieira P, O'Garra A. Biology and therapeutic potential of interleukin-10. *Journal of Experimental Medicine.* 2020;217(1):1-19. doi:10.1084/jem\_20190418
30. Ouyang W, O'Garra A. IL-10 Family Cytokines IL-10 and IL-22: from Basic Science to Clinical Translation. *Immunity.* 2019;50(4):871-891. doi:10.1016/j.immuni.2019.03.020
31. Couper KN, Blount DG, Riley EM. IL-10: The Master Regulator of Immunity to Infection. *The Journal of Immunology.* 2008;180(9):5771-5777. doi:10.4049/jimmunol.180.9.5771
32. Kimura A, Naka T, Kishimoto T. IL-6-dependent and -independent pathways in the development of interleukin 17-producing T helper cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(29):12099-12104. doi:10.1073/pnas.0705268104



33. Shi JH, Guan H, Shi S, et al. Protection against TGF- $\beta$ 1-induced fibrosis effects of IL-10 on dermal fibroblasts and its potential therapeutics for the reduction of skin scarring. *Arch Dermatol Res*. 2013;305(4):341-352. doi:10.1007/s00403-013-1314-0
34. Bocheva GS, Slominski RM, Slominski AT. Immunological aspects of skin aging in atopic dermatitis. *Int J Mol Sci*. 2021;22(11):1-16. doi:10.3390/ijms22115729
35. Lobo-Silva D, Carriche GM, Castro AG, Roque S, Saraiva M. Balancing the immune response in the brain: IL-10 and its regulation. *J Neuroinflammation*. 2016;13(1):1-10. doi:10.1186/s12974-016-0763-8
36. Loser K, Apelt J, Voskort M, et al. IL-10 Controls Ultraviolet-Induced Carcinogenesis in Mice. *The Journal of Immunology*. 2007;179(1):365-371. doi:10.4049/jimmunol.179.1.365
37. Kang K, Gilliam AC, Chen G, Tootell E, Cooper KD. In human skin, UVB initiates early induction of IL-10 over IL-12 preferentially in the expanding dermal monocytic/macrophagic population. *Journal of Investigative Dermatology*. 1998;111(1):31-38. doi:10.1046/j.1523-1747.1998.00121.x
38. Lobo-Silva D, Carriche GM, Castro AG, Roque S, Saraiva M. Balancing the immune response in the brain: IL-10 and its regulation. *J Neuroinflammation*. BioMed Central Ltd. 2016;13(1). doi:10.1186/s12974-016-0763-8
39. Sawitri NE, Reviono, Suradi, Prasetyo AA. Polimorfisme Gen IL-10 -1082 G / A Sebagai Faktor Kerentanan Pejamu pada Pasien Tuberkulosis Multidrug Resistant Host Susceptibility Factor In Patients With Multidrug Resistant Tuberculosis. *J Respir Indo*. 2016;36(1):1-10.
40. Ali S, Farooqui NA, Ahmad S, Salman M, Mandal S. *Catharanthus roseus* (Sadabahar): a brief study on medicinal plant having different pharmacological activities. *Plant Archives (09725210)*. 2021;21(2).

41. Duschanova G, Aripova S, Sharipov A, Nazirova Y, Djalilova N. Pharmacognostic study of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don, growing in Uzbekistan. *BIO Web Conf.* 2024;100:1-8. doi:10.1051/bioconf/202410004009
42. Govindan N, Vairaprakasam K, Chinnasamy C, Sivalingam T, Mohammed MKA. Green synthesis of Zn-doped: *Catharanthus Roseus* nanoparticles for enhanced anti-diabetic activity. *Mater Adv.* 2020;1(9):3460-3465. doi:10.1039/d0ma00698j
43. Benoît Y, Gnahoué G, Calixte B, Noel YJ, Koné DS, Allassane OF. Evaluation of the antioxidant activity of the aqueous extract of *Catharanthus roseus* (Apocynaceae) on hypertensive rats induced by 60% fructose. *Pharma Innov.* 2020;9(9):31-40. doi:10.22271/tpi.2020.v9.i9a.5170
44. Pham HNT, Vuong Q Van, Bowyer MC, Scarlett CJ. Phytochemicals Derived from *Catharanthus roseus* and Their Health Benefits. *Technologies (Basel).MDPI.* 2020;8(4). doi:10.3390/technologies8040080
45. Cholil IUAD. *PENGARUH KRIM EKSTRAK TAPAK DORO (Catharanthus Roseus) TERHADAP KADAR INTERLEUKIN-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) DAN MATRIX METALLOPROTEINASE-3 (MMP-3).*; 2024.
46. Mulaudzi RB, Ndhlala AR, Van Staden J. Ethnopharmacological evaluation of a traditional herbal remedy used to treat gonorrhoea in Limpopo province, South Africa. *South African Journal of Botany.* 2015;97:117-122. doi:10.1016/j.sajb.2014.12.007
47. D'Orazio J, Jarrett S, Amaro-Ortiz A, Scott T. UV radiation and the skin. *Int J Mol Sci.* 2013;14(6):12222-12248. doi:10.3390/ijms140612222
48. Bosch R, Philips N, Suárez-Pérez JA, Juarranz A, Devmurari A, chalensouk-Khaosaat J; and Gonzalez S. Mechanisms of photoaging and cutaneous photocarcinogenesis, and photoprotective strategies with phytochemicals. *Antioxidants (Basel).* 2015;4:248-268.

49. Pittayaprupek P, Meephansan J, Prapapan O, Komine M, Ohtsuki M. Role of matrix metalloproteinases in Photoaging and photocarcinogenesis. *Int J Mol Sci*. 2016;17(6). doi:10.3390/ijms17060868
50. Sharma MR, Werth B, Werth VP. Animal models of acute photodamage: Comparisons of anatomic, cellular and molecular responses in C57BL/6J, SKH1 and Balb/c mice. *Photochem Photobiol*. 2011;87(3):690-698. doi:10.1111/j.1751-1097.2011.00911.x
51. Wong QYA, Chew FT. Defining skin aging and its risk factors: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2021;11(1):1-13. doi:10.1038/s41598-021-01573-z
52. Kang S, Amagai M, Bruckner A, Enk A, Margolis D, McMichael A. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 9th ed. McGraw-Hill Education LLC; 2019.
53. Murlistyarini S, Dani AA. Peran Matriks Metaloproteinase ( MMP ) pada Proses Photoaging. *Journal of Dermatology, Venereology and Aesthetic*. 2022;3(1):13-22.
54. Na EJ, Ryu JY. Anti-inflammatory effects of prunin on UVB-irradiated human keratinocytes. *Biomedical Dermatology*. 2018;2(1). doi:10.1186/s41702-018-0024-9
55. Kawashima S, Funakoshi T, Sato Y, et al. Protective effect of pre- and post-vitamin C treatments on UVB-irradiation-induced skin damage. *Sci Rep*. 2018;8(1):1-12. doi:10.1038/s41598-018-34530-4
56. Chaqour B, Seité S, Coutant K, Fourtanier A, Borel JP, Bellon G. Chronic UVB- and all-trans retinoic-acid-induced qualitative and quantitative changes in hairless mouse skin. *J Photochem Photobiol B*. 1995;28(2):125-135. doi:10.1016/1011-1344(94)07080-8
57. Cavinato M, Waltenberger B, Baraldo G, Grade CVC, Stuppner H, Jansen-Dürr P. Plant extracts and natural compounds used against UVB-induced

- photoaging. *Biogerontology*. Springer Netherlands. 2017;18(4):499-516. doi:10.1007/s10522-017-9715-7
58. Sharma GS, Anusha L, Kiran RS, Geetha K, Rao TR. A REVIEW ON PHARMACEUTICAL GELS. 21(12):1338-1351.
  59. Sharma U, Arjariya S, Chouksey R, Sharma N. A Review: Formulation and Evaluation of Pharmaceutical Gel. *J Pharm Negat Results*. 2022;13(1):1344-1362. doi:10.47750/pnr.2022.13.S01.160
  60. Her Y, Shin BN, Lee YL, et al. Oenanthe javanica extract protects mouse skin from UVB radiation via attenuating collagen disruption and inflammation. *Int J Mol Sci*. 2019;20(6):1-12. doi:10.3390/ijms20061435
  61. Sun ZW, Hwang E, Lee HJ, et al. Effects of Galla chinensis extracts on UVB-irradiated MMP-1 production in hairless mice. *J Nat Med*. 2015;69(1):22-34. doi:10.1007/s11418-014-0856-6
  62. Che DN, Xie GH, Cho BO, Shin JY, Kang HJ, Jang S Il. Protective effects of grape stem extract against UVB-induced damage in C57BL mice skin. *J Photochem Photobiol B*. 2017;173(June):551-559. doi:10.1016/j.jphotobiol.2017.06.042
  63. Blackstone BN, Wilgus TA, Roy S, Wulff BC, Powell HM. Skin Biomechanics and miRNA Expression Following Chronic UVB Irradiation. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2020;9(3):79-89. doi:10.1089/wound.2019.1034
  64. Mahfouf W, Hosseini M, Muzotte E, et al. Loss of Epidermal HIF-1 $\alpha$  Blocks UVB-Induced Tumorigenesis by Affecting DNA Repair Capacity and Oxidative Stress. *Journal of Investigative Dermatology*. 2019;139(9):2016-2028.e7. doi:10.1016/j.jid.2019.01.035
  65. Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Photoaging: UV radiation-induced inflammation and immunosuppression accelerate the aging process

- in the skin. *Inflammation Research*. 2022;71(7-8):817-831. doi:10.1007/s00011-022-01598-8
66. Sharma MR, Mitrani R, Werth VP. Effect of TNF $\alpha$  blockade on UVB-induced inflammatory cell migration and collagen loss in mice. *J Photochem Photobiol B*. 2020;213(October):112072. doi:10.1016/j.jphotobiol.2020.112072
  67. Bunyanis F, L.Ode W. Formulasi Sedian Gel Ekstrak Etanol Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus*, (L) G. Don). *Journal of Health Educational Science And Technology*. 2023;6(1):39-46. doi:10.25139/htc.v6i1.5321
  68. Alfiaturrohman A, Herbani M, Andriana D. Efek Perasan Aloe vera L. terhadap Ketebalan Epitel dan Kepadatan Kolagen pada Luka Sayat Tikus Wistar. *Jurnal Bio Komplementer Medicine*. 2020;7(2):19.
  69. Rarison RHG, Truong VL, Yoon BH, Park JW, Jeong WS. Antioxidant and Anti-Inflammatory Mechanisms of Lipophilic Fractions from *Polyscias fruticosa* Leaves Based on Network Pharmacology, In Silico, and In Vitro Approaches. *Foods*. 2023;12(19):3643. doi:10.3390/FOODS12193643/S1
  70. Kim DJ, Iwasaki A, Chien AL, Kang S. UVB-mediated DNA damage induces matrix metalloproteinases to promote photoaging in an AhR- and SP1-dependent manner. *JCI Insight*. 2022;7(9):e156344. doi:10.1172/JCI.INSIGHT.156344
  71. Cavinato M, Waltenberger B, Baraldo G, Grade CVC, Stuppner H, Jansen-Dürr P. Plant extracts and natural compounds used against UVB-induced photoaging. *Biogerontology*. 2017;18(4):499. doi:10.1007/S10522-017-9715-7
  72. Keen MA, Hassan I. Vitamin E in dermatology. *Indian Dermatol Online J*. 2016;7(4):311. doi:10.4103/2229-5178.185494



73. Rizvi S, Raza ST, Ahmed F, Ahmad A, Abbas S, Mahdi F. The Role of Vitamin E in Human Health and Some Diseases. *Sultan Qaboos Univ Med J*. 2014;14(2):e157. doi:10.18295/2075-0528.1566
74. Mendonce KC, Palani N, Rajadesingu S, Radhakrishnan K, Ayyar M, Priya LS. Pharmacological potential of bioactive compounds in *Catharanthus roseus* extract: A comprehensive review. *Toxicol Rep*. 2025;14:101998. doi:10.1016/J.TOXREP.2025.101998
75. Liu J, Yang X, Huang X, et al. Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of Crude *Gastrodia elata* Polysaccharides in UVB-Induced Acute Skin Damage. *Antioxidants*. 2025;14(7):894. doi:10.3390/ANTIOX14070894/S1
76. Michalak M, Pierzak M, Kręcis B, Suliga E. Bioactive Compounds for Skin Health: A Review. *Nutrients*. 2021;13(1):203. doi:10.3390/NU13010203
77. Mendonce KC, Palani N, Rajadesingu S, Radhakrishnan K, Ayyar M, Priya LS. Pharmacological potential of bioactive compounds in *Catharanthus roseus* extract: A comprehensive review. *Toxicol Rep*. 2025;14:101998. doi:10.1016/J.TOXREP.2025.101998
78. Cookman CJ, Belcher SM. Classical nuclear hormone receptor activity as a mediator of complex concentration response relationships for endocrine active compounds. *Curr Opin Pharmacol*. 2014;19:112-119. doi:10.1016/j.coph.2014.09.013
79. Shrivastava AK, Keshari M, Neupane M, et al. Evaluation of Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities, and Metabolite Profiling of Selected Medicinal Plants of Nepal. *J Trop Med*. 2023;2023:6641018. doi:10.1155/2023/6641018
80. Singampalli KL, Balaji S, Wang X, et al. The Role of an IL-10/Hyaluronan Axis in Dermal Wound Healing. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8:636. doi:10.3389/FCELL.2020.00636