

**PENGARUH SERUM EKSTRAK DAUN KELOR
(*Moringa oleifera*) TERHADAP KADAR IL-6 DAN MDA
(Studi Eksperimental pada Tikus Wistar yang dipapar Sinar UV-B)**

Tesis

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



Magister Ilmu Biomedik

Amirah Umar Abdat

MBK.24.24.010499

PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG

2026

HALAMAN PENGESAHAN

TESIS

**PENGARUH SERUM EKSTRAK DAUN KELOR
(*Moringa oleifera*) TERHADAP KADAR IL-6 DAN MDA
(Studi Eksperimental pada Tikus Wistar yang dipapar Sinar UV-B)**

Disusun oleh

Amirah Umar Abdat

MBK.24.24.010499

Akan dipertahankan di depan Tim Penguji Pada Februari 2026 dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. dr. Prasetyadi Mawardi, Sp.DVE.,
Subsp.Ven, FINS DV, FAAD
NIP. 196112101990031005

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

Mengetahui,

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





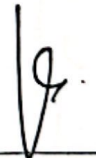


Joko Wahyu Wibowo, M.Kes
NIP. 210198046

LEMBAR PENGESAHAN DEWAN PENGUJI

Laporan Tesis dengan Judul “PENGARUH SERUM EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) TERHADAP KADAR IL-6 DAN MDA (Studi Eksperimental pada Tikus Wistar yang dipapar Sinar UV-B)” ini telah dipertahankan di depan Penguji Sidang Akhir pada:

Hari : Selasa

Tanggal : 24 Februari 2026

NO	NAMA	JABATAN	TANDA TANGAN
1	Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B., FINACS	Penguji I	
2	Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp.DVE., Subsp.DKE, FINS DV, FAADV	Penguji II	
3	Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes	Penguji III	
4	Dr. dr. Prasetyadi Mawardi, Sp.DVE., Subsp. Ven, FINS DV, FAAD	Pembimbing I	
5	Dr. dr. Setyo Trisnadi, SH., Sp.KF	Pembimbing II	

PERNYATAAN

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



Semarang, 2 Februari 2026


Amirah Umar Abdat

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Amirah Umar Abdat
Tempat, Tanggal Lahir : Surakarta, 5 Juni 1989
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan
Status Pernikahan : Menikah
Alamat : Jl. Sungai Negara 19, Pasar Kliwon, Surakarta, Jawa
Tengah
No. HP/WA : 081226168787
Email : amirahumar05@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

TK : TK Al Irsyad, Surakarta
SD : SD Al Irsyad, Surakarta
SMP : SMP Negeri 4, Surakarta
SMA : SMA Negeri 3, Surakarta (Jurusan IPA)
S1 : Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret
Profesi Dokter : Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret
Magister : Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Unissula

C. Riwayat Keluarga

Suami : Afrizal Doewes
Anak : Muhammad Aiman Doewes,
Almaira Afrizal Doewes,
Amelie Afrizal Doewes

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas segala rahmat, karunia, dan kasih sayang-Nya, sehingga tesis ini yang berjudul "Pengaruh Serum Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Kadar IL-6 dan MDA (Studi Eksperimental pada Tikus Wistar yang Dipapar Sinar UV-B)" dapat diselesaikan dengan baik sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Penulis menyadari bahwa terselesaikannya tesis ini tidak terlepas dari bantuan dan dukungan berbagai pihak yang telah memberikan kontribusi besar baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menyampaikan ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan dalam penyelesaian tesis ini.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Gunarto, S.H., M.Hum, selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang beserta para Wakil Rektor yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menempuh dan menyelesaikan pendidikan Magister Biomedik.
2. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, sekaligus Dosen Penguji I yang telah memberikan pengarahan dan masukan untuk perbaikan tesis ini.

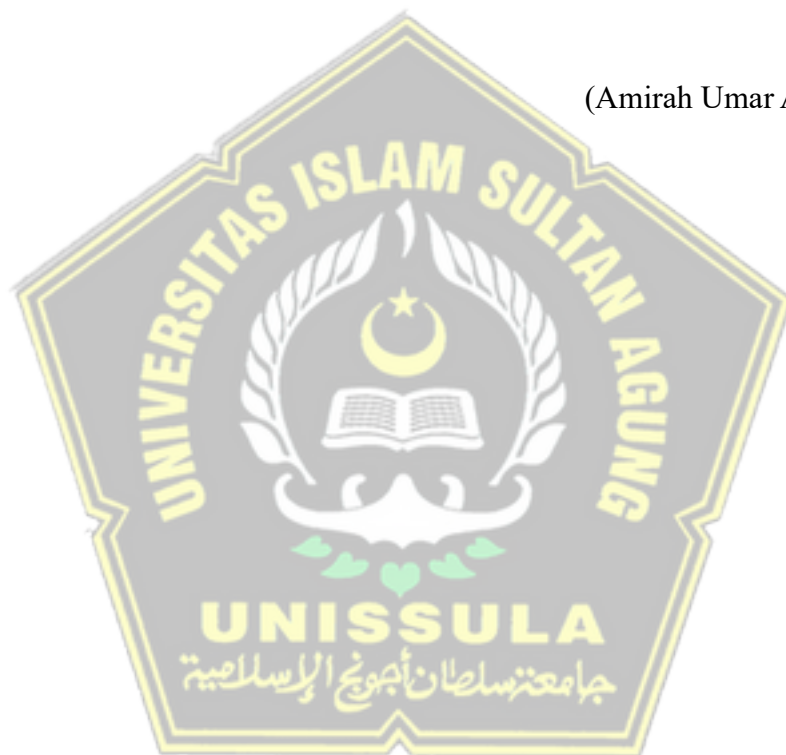
3. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes, selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang, sekaligus Dosen Penguji II yang telah memberikan pengarahan dan dukungan dalam penyusunan tesis ini.
4. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp.DVE., Subsp.DKE, FINS DV, FAADV, selaku Dosen Penguji III yang telah memberikan pengarahan dan dukungan dalam penyusunan tesis ini.
5. Dr. dr. Setyo Trisnadi, SH., Sp.KF, selaku Dosen Pembimbing I, yang telah memberikan banyak perhatian, waktu, kritik, saran, serta motivasi yang membangun bagi penulis selama penyusunan tesis ini.
6. Dr. dr. Prasetyadi Mawardi, Sp.DVE., Subsp.Ven, FINS DV, FAAD, selaku Dosen Pembimbing II, yang telah memberikan banyak perhatian, waktu, kritik, saran, serta motivasi yang membangun bagi penulis selama penyusunan tesis ini.
7. Para dosen dan staf pengajar Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang telah memberikan ilmu dan wawasan selama masa studi, serta banyak membantu selama penyusunan tesis ini.
8. Keluarga tercinta, atas doa, dukungan, dan semangat yang selalu menyertai.
9. Rekan-rekan seperjuangan, atas kerja sama, motivasi, dan kebersamaan selama proses penyusunan tesis ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan tesis ini, sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan agar tesis ini dapat menjadi lebih baik. Akhir kata penulis mengucapkan banyak terima kasih.

Semoga tesis ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu biomedik dan penelitian terkait.

Semarang, 3 Februari 2026

(Amirah Umar Abdat)



ABSTRAK

Latar Belakang: Paparan UVB memicu stres oksidatif dan inflamasi kulit yang ditandai peningkatan MDA dan IL-6. Senyawa bioaktif dalam daun kelor (*Moringa oleifera*), seperti flavonoid dan polifenol, dapat melindungi kulit dari kerusakan oksidatif sekaligus menekan respons inflamasi. Penelitian ini bertujuan menilai pengaruh serum ekstrak daun kelor terhadap kadar MDA dan IL-6 pada kulit tikus Wistar terpapar UVB.

Metode: Penelitian eksperimental *in vivo* dengan rancangan *post-test only control group design*. 30 tikus Wistar jantan dibagi menjadi lima kelompok: sehat, kontrol negatif, kontrol positif, serta perlakuan serum ekstrak daun kelor 10% dan 15%. Tikus dipapar sinar UVB 70 mJ/cm² selama 15 menit setiap hari dan diberikan serum sesuai kelompoknya selama 14 hari. Pada hari ke-15, jaringan kulit diambil untuk pengukuran kadar IL-6 dan MDA dan dianalisis dengan ELISA.

Hasil: Kadar IL-6 pada tikus Wistar yang diberikan serum ekstrak daun kelor konsentrasi 10% dan 15% masing-masing sebesar $9,84 \pm 1,16$ ng/L dan $11,59 \pm 1,81$ ng/L, sedangkan kadar MDA masing-masing sebesar $2,48 \pm 0,30$ nmol/mL dan $1,89 \pm 0,39$ nmol/mL. Serum daun kelor 10% menunjukkan kadar IL-6 yang lebih rendah dibanding kontrol negatif namun perbedaannya tidak signifikan ($p > 0,05$). Serum 15% menunjukkan kadar MDA yang lebih rendah signifikan dibanding kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Pemberian serum ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) berpengaruh terhadap kadar IL-6 dan MDA pada kulit tikus Wistar yang terpapar UVB, dengan konsentrasi 10% menunjukkan kadar IL-6 lebih rendah dan konsentrasi 15% menunjukkan kadar MDA lebih rendah signifikan dibanding kelompok kontrol negatif.

Kata Kunci: *Moringa oleifera*, IL-6, MDA, UVB, tikus Wistar

ABSTRACT

Background: UVB exposure causes oxidative stress and skin inflammation, marked by increased MDA and IL-6 levels. Bioactive compounds in *Moringa oleifera*, such as flavonoids and polyphenols, can effectively protect the skin and reduce inflammation. This study evaluated the effect of moringa leaf extract serum on MDA and IL-6 in UVB-exposed Wistar rat skin.

Methods: This *in vivo* experimental study used a post-test only control group design. Thirty male Wistar rats were divided into five groups: healthy control, negative control, positive control, and treatment groups receiving *Moringa oleifera* extract serum at 10% and 15%. Rats were exposed to UVB radiation (70 mJ/cm², 15 minutes daily) and treated with serum for 14 days. On day 15, skin tissues were collected to measure IL-6 and MDA levels using ELISA.

Results: IL-6 levels in Wistar rats treated with *Moringa oleifera* extract serum at concentrations of 10% and 15% were 9.84 ± 1.16 ng/L and 11.59 ± 1.81 ng/L, while MDA levels were 2.48 ± 0.30 nmol/mL and 1.89 ± 0.39 nmol/mL. The 10% serum showed lower IL-6 levels than the negative control, although the difference was not significant ($p > 0.05$). The 15% serum showed significantly lower MDA levels compared with the negative control ($p < 0.05$).

Conclusion: Administration of *Moringa oleifera* extract serum affected IL-6 and MDA levels in UVB-exposed Wistar rat skin, with the 10% concentration showing lower IL-6 levels and the 15% concentration showing significantly lower MDA levels compared with the negative control group.

Keywords: *Moringa oleifera*, IL-6, MDA, UVB, Wistar rats

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN DEWAN PENGUJI.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
RIWAYAT HIDUP	v
KATA PENGANTAR.....	vi
ABSTRAK	ix
<i>ABSTRACT</i>	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1. Tujuan Umum	3
1.4 Originalitas Penelitian.....	4
1.5 Manfaat Penelitian	7
1.5.1. Teoritis.....	7
1.5.2. Praktis.....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Interleukin-6 (IL-6)	8
2.1.1. Mekanisme Produksi IL-6.....	8
2.2 MDA	9
2.2.1. Definisi dan Pembentukan MDA.....	9
2.2.2. Dampak MDA pada Struktur Kulit.....	10
2.2.3. Peran MDA dalam Proses <i>Photoaging</i> dan Pendekatan Terapeutik	11
2.3 Daun Kelor	12
2.3.1. Zat aktif pada Kelor yang berperan dalam penyembuhan kulit. ...	14
2.3.2. Studi Terdahulu mengenai Penggunaan Daun Kelor.....	15
2.4 UVB	16
2.5 <i>Photoaging</i>	17
2.6 Serum	18
BAB 3 KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS	20
3.1 Kerangka Teori.....	20
3.2 Kerangka Konsep.....	24
BAB 4 METODE PENELITIAN	25
4.1 Rancangan Penelitian	25
4.2 Populasi dan Sampel	26
4.2.1. Populasi.....	26

4.2.2.	Besar Sampel.....	26
4.2.3.	Cara Pengambilan Sampel Penelitian	27
4.2.4.	Kriteria Inklusi	27
4.2.5.	Kriteria Eksklusi.....	27
4.2.6.	Drop Out	28
4.3	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	28
4.3.1.	Variabel Bebas.....	28
4.3.2.	Variabel Terikat	28
4.3.3.	Variabel Prakondisi	29
4.3.4.	Definisi Operasional.....	29
4.4	Alat dan Bahan penelitian	30
4.4.1.	Alat.....	30
4.4.2.	Bahan.....	32
4.5	Prosedur Penelitian dan Alur Kerja.....	33
4.5.1.	Perolehan <i>Ethical Clearance</i>	33
4.5.2.	Cara Pembuatan Ekstrak Daun Kelor	33
4.5.3.	Pembuatan Sediaan Serum Ekstrak Daun Kelor.....	33
4.5.4.	Cara Persiapan Sebelum Perlakuan.....	34
4.5.5.	Pemberian Terapi Preventif.....	35
4.5.6.	Cara Induksi <i>Photoaging</i>	35
4.5.7.	Validasi Model <i>Photoaging</i>	35
4.5.8.	Terminasi dan Pengambilan Sampel	37
4.5.9.	Prosedur Pengujian ELISA untuk Mengukur Kadar IL-6 pada Jaringan Tikus	37
4.5.10.	Prosedur Pengujian ELISA untuk Mengukur Kadar MDA pada Jaringan Tikus	39
4.5.11.	Alur Penelitian	41
4.5.12.	Waktu dan Tempat Penelitian.....	42
4.5.13.	Analisis Data	42
BAB 5	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	43
5.1	Hasil Penelitian	43
5.1.1	Validasi Model <i>Photoaging</i>	44
5.1.2	Gambaran Makroskopis Model <i>Photoaging</i> Antar Kelompok	48
5.1.3	Hasil Pemeriksaan Kadar IL-6 pada Jaringan Kulit.....	51
5.1.4	Hasil Pemeriksaan Kadar MDA pada Jaringan Kulit.....	54
5.2	Pembahasan.....	57
BAB 6	KESIMPULAN DAN SARAN	65
6.1	Kesimpulan	65
6.2	Saran.....	66
DAFTAR	PUSTAKA	67
LAMPIRAN	72

DAFTAR SINGKATAN

ABTS	<i>2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)</i>
CAT	<i>Catalase</i>
CPD	<i>Cyclobutane Pyrimidine Dimers</i>
COA	<i>Certificate of Analysis</i>
DAI	<i>Degree of Anti-inflammation Index</i>
DAMPs	<i>Damage-Associated Molecular Patterns</i>
DPPH	<i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
ECM	<i>Extracellular Matrix</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
HRP	<i>Horseradish Peroxidase</i>
IL-6	<i>Interleukin-6</i>
MAPK	<i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MDA	<i>Malondialdehida</i>
MMPs	<i>Matrix Metalloproteinases</i>
NF- κ B	<i>Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>
NO	<i>Nitric Oxide</i>
p21	<i>Protein 21</i>
p53	<i>Protein 53</i>
PBS	<i>Phosphate-Buffered Saline</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	<i>Superoxide Dismutase</i>

TMB	<i>Tetramethylbenzidine</i>
TLRs	<i>Toll-Like Receptors</i>
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
UVA	<i>Ultraviolet A</i>
UV	<i>Ultraviolet</i>
UVB	<i>Ultraviolet B</i>



DAFTAR TABEL

Tabel 1. 1 Originalitas Penelitian	4
Tabel 5.1 Jumlah <i>Sunburn Cell</i> pada kulit tikus dari 5 lapang pandang per sampel.	45
Tabel 5.2 Deskriptif Rata-rata Kadar IL-6 dan Uji <i>Kruskal-Wallis</i>	50
Tabel 5.3 Hasil Uji <i>Post Hoc Mann Whitney</i> setelah Perlakuan terhadap rata-rata kadar IL-6.....	51
Tabel 5.4 Deskriptif Rata-rata Kadar MDA dan Uji <i>Welch ANOVA</i>	54
Tabel 5.5 Hasil Uji <i>Post Hoc Tamhane</i> setelah Perlakuan terhadap rata-rata kadar MDA	55



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>).....	13
Gambar 3. 1 Kerangka Teori.....	23
Gambar 3. 2 Kerangka konsep.....	24
Gambar 4. 1 Pengelompokan sediaan.....	25
Gambar 4. 2 Alur Penelitian.....	41
Gambar 5.1 Gambaran mikroskopis jaringan kulit tikus: (A) Kondisi kulit normal pada tikus; (B) Kondisi kulit dengan paparan sinar UVB.....	45
Gambar 5.2 Gambaran Makroskopis Hari ke-0 (H0) dan Gambaran Makroskopis Kulit Terpapar Sinar UVB pada Hari ke-14 (H14) Antar Kelompok Perlakuan (K1: Kelompok sehat, K2: Kontrol negatif, K3: Kontrol positif, K4: Serum Ekstrak Kelor 10%, K5: Serum Ekstrak Kelor 15%).....	49
Gambar 5.3 Perbandingan Kadar IL-6 antar Kelompok Perlakuan.....	52
Gambar 5.5 Perbandingan Kadar MDA antar Kelompok Perlakuan.....	55



DAFTAR LAMPIRAN

1. <i>Ethical Clearance</i>	72
2. Surat Izin Penelitian	73
3. Sertifikat Ekstrak <i>Moringa Oleifera</i>	74
4. Alat dan Bahan yang Digunakan untuk Perlakuan Tikus.....	78
5. Foto Makroskopis Hewan Coba.....	79
7. Surat Hasil Pemeriksaan Laboratorium Deteksi Jumlah <i>Sunburn Cell</i>	85
8. Surat Keterangan Hasil ELISA Jaringan IL-6 dan MDA.....	86
9. Hasil SPSS	89



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kulit merupakan organ yang rentan terhadap kerusakan akibat faktor eksternal, salah satunya paparan sinar ultraviolet B (UV-B) yang dapat mempercepat proses penuaan dini atau *photoaging*. *Photoaging* ditandai dengan perubahan makroskopis pada kulit seperti kekeringan, kekasaran, kerutan, kehilangan elastisitas, pigmentasi tidak merata, dan pelebaran pembuluh darah, serta perubahan mikroskopis berupa peningkatan sitokin proinflamasi, seperti IL-6, dan produk oksidatif, seperti malondialdehida (MDA). Paparan UV-B yang berulang tidak hanya merusak struktur kulit melalui degradasi matriks ekstraseluler (ECM) dan peningkatan aktivitas *matriks metalloproteinase* (MMPs), tetapi juga mengaktifkan jalur pensinyalan inflamasi dan stres oksidatif, yang dapat meningkatkan risiko komplikasi kesehatan lebih lanjut, termasuk kanker kulit.¹ Masalah ini menjadi penting karena *photoaging* tidak hanya mempengaruhi penampilan, tetapi juga berpotensi menimbulkan gangguan kesehatan sistemik, sehingga diperlukan upaya preventif yang efektif untuk melindungi kulit dari kerusakan akibat paparan UV-B.

Paparan sinar UVB merupakan penyebab utama *photoaging*, yang ditandai dengan kerutan, pigmentasi tidak merata, dan penurunan elastisitas kulit. Paparan UVB akan merusak matriks ekstraseluler (ECM) dan meningkatkan akumulasi *matriks metalloproteinase* (MMPs), serta memicu peningkatan penanda penuaan seperti p21 dan p53, yang mengindikasikan kerusakan DNA.

²⁻⁵ Proses ini juga meningkatkan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) dan mengaktifkan jalur pensinyalan inflamasi, seperti MAPK dan NF- κ B yang meningkatkan ekspresi IL-6 dan MDA. Hal ini mengarah pada perubahan seluler yang mempercepat proses penuaan kulit, yang tidak hanya mempengaruhi penampilan tetapi juga kesehatan secara keseluruhan, terkait dengan peningkatan risiko penyakit kardiovaskular, penurunan imunosenesens, atau bahkan perkembangan kanker kulit. Perkembangan terapi topikal seperti niacinamide gel memberikan gambaran bahwa bahan aktif antiinflamasi dan antioksidan dapat menurunkan IL-6, menghambat ROS, memperbaiki barrier kulit, dan mencegah progresi *photoaging*. Tuntutan pengembangan strategi pencegahan yang aman dan efektif mendorong perlunya evaluasi mendalam terhadap efektivitas intervensi topikal.

Kelor (*Moringa oleifera*) merupakan tumbuhan yang memiliki banyak manfaat, salah satunya adalah antiinflamasi dan juga sebagai antioksidan. Kelor memiliki kandungan flavonoid seperti kuersetin dan senyawa *isothiocyanates* yang bekerja sebagai antiinflamasi dan antioksidan yang mampu menurunkan IL-6, TNF- α , serta MDA.⁶ Kelor telah terbukti menurunkan peradangan pada berbagai model hewan sehingga konsep penggunaannya sebagai agen anti-*photoaging* menjadi relevan.⁷ Konsep integrasi bahan alam seperti ekstrak daun kelor dalam regimen topikal muncul seiring meningkatnya minat terhadap terapi yang lebih aman dan ramah kulit dibandingkan bahan sintesis. Potensi kelor ini menjadikannya pilihan yang relevan untuk mendampingi atau

menggantikan niacinamide gel, yang telah terbukti efektif dalam melindungi kulit dari kerusakan akibat paparan UV-B.

Evaluasi potensi dan keamanan ekstrak daun kelor dalam formulasi topikal menjadi fokus penting dalam pengembangan strategi pencegahan *photoaging* yang aman dan efektif untuk kesehatan kulit. Ekstrak daun kelor yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari sumber yang telah menjalani proses pengolahan *cosmetic-grade* sehingga kualitasnya terjaga dan konsisten. Formulasi serum berbahan ekstrak kelor diharapkan mampu memberikan perlindungan terhadap kerusakan jaringan kulit yang dipicu oleh UV-B melalui aktivitas antiinflamasi dan antioksidan yang dimilikinya. Penelitian ini dilakukan dengan membuat sediaan serum mengandung ekstrak daun kelor sebagai solusi preventif untuk mengurangi risiko *photoaging* sekaligus sebagai potensi pendamping atau pelengkap niacinamide gel dalam regimen perawatan kulit.

1.2 Rumusan Masalah

Adakah pengaruh serum ekstrak *Moringa oleifera* terhadap kadar IL-6 dan MDA pada kulit tikus Wistar yang terpapar UVB?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian serum ekstrak *Moringa oleifera* terhadap kadar IL-6 dan MDA pada kulit tikus Wistar yang terpapar UVB.

1.3.2. Tujuan Khusus

Penelitian ini memiliki tujuan khusus :

1. Mengetahui perbedaan kadar IL-6 pada kulit tikus wistar setelah pemberian serum ekstrak *Moringa oleifera* 10% dan 15% antar kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol yang dipapar sinar UVB.
2. Mengetahui perbedaan kadar MDA pada kulit tikus wistar setelah pemberian serum ekstrak *Moringa oleifera* 10% dan 15% antar kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol yang dipapar sinar UVB.
3. Mengetahui dosis serum ekstrak *Moringa oleifera* yang lebih efektif di antara konsentrasi 10% dan 15% dalam mempengaruhi kadar IL-6 dan MDA pada kulit tikus Wistar yang terpapar UVB.

1.4 Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

No	Peneliti, Tahun,	Judul	Metode Penelitian	Hasil Penelitian
1	Mayang sari, et al. (2024)	<i>Comparison of UVA vs UVB Photoaging Rat Models in Short-term Exposure</i>	<i>In Vivo</i>	Tikus dipaparkan sinar UVA dan UVB selama 4 minggu. Derajat keriput tertinggi ditemukan pada kulit tikus yang dipapar UVB sebesar 51% dengan adanya penebalan lapisan epidermis dan dermis ⁸ .
2	Tang, et al. (2024)	<i>Current insights and future perspectives of ultraviolet radiation (UV) exposure: Friends and foes to the skin and beyond the skin</i>	Studi literatur	Penelitian ini menyatakan paparan sinar UV dapat mengakibatkan <i>sunburn</i> , inflamasi, <i>photoaging</i> , dan bahkan kanker kulit. Untuk itu, diperlukan cara-cara untuk mencegah radiasi UV dan mengurangi paparan sinar UV pada kulit ⁹ .

3	Xu, et al. (2019)	<i>Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of the Crude Extracts of Moringa oleifera from Kenya and Their Correlations with Flavonoids</i>	<i>In Vitro</i>	Tumbuhan Kelor memiliki aktivitas antioksidan dan anti inflamasi pada daun, biji, dan akarnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun memiliki nilai DPPH tertinggi dan nilai FRAP tertinggi, sementara nilai ABTS tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak daun dan akar. Ekstrak daun dan biji juga menunjukkan aktivitas anti inflamasi dengan menghambat produksi NO. Ekstrak daun kelor dapat menjadi potensi sumber alternatif untuk antioksidan dan anti-inflamasi ¹⁰ .
4	Dyah, et al. (2024).	Analisa Zat Aktif Daun Kelor (<i>Moringa Oleifera</i>) Sebagai Studi Awal Obat Kanker	<i>In Vitro</i>	Kandungan kuersetin (antioksidan) yang ada dalam 100 mg daun kelor menghasilkan angka terbesar (10,39) setelah diekstraksi selama 72 jam, dibandingkan dengan kandungan kuersetin pada daun kelor yang diekstraksi selama 48 jam (7,40) dan selama 24 jam (5,08) ¹¹ .
5	Wulan, et al. (2021)	Potensi Ekstrak Etanol Daun Kelor sebagai Antiinflamasi, Penetapan Kadar Flavonoid Total	<i>In Vivo</i>	Hasil penelitian menunjukkan kadar flavonoid dari ekstrak etanol daun kelor adalah 8,33 mg/100 mg. Uji daya antiinflamasi ekstrak etanol daun kelor 35 mg/KgBb tidak memiliki perbedaan yang signifikan dan setara dengan kontrol positif Na diklofenak (DAI 13,15%) ¹² .
6	Robby (2022)	Pengaruh Variasi Konsentrasi Ekstrak Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i> Lamk) Terhadap Efek Antiinflamasi Sediaan Emulgel	<i>In Vivo</i>	Sediaan Gel dengan formulasi ekstrak etanol daun kelor divariasikan di konsentrasi 5%, 7,5%, dan 10%. Dalam pengujian efek antiinflamasi, formula 10% memberi nilai persen penurunan radang yang paling tinggi dibanding formula 7,5%, 5%, dan kontrol negatif secara signifikan ($p < 0,05$) ¹³ .
7	Rachmania, al. (2024)	<i>Moringa oleifera leaf extract ameliorates collagen degradation via</i>	<i>In Vivo</i>	Ekstrak daun <i>Moringa oleifera</i> 5% dan 10% secara signifikan mengurangi ekspresi gen MMP-3 dan meningkatkan densitas <i>collagen</i> dibandingkan kontrol negatif

		<i>the inhibition of MMP-3 expression in UVB-induced rats</i>		($p < 0,05$) ⁷ .
8	Pakan, et al. (2023)	<i>Topical Antibacterial Therapy from Moringa oleifera Extract Against Staphylococcus epidermidis</i>	<i>In Vivo</i>	Penelitian menunjukkan hasil bahwa Formulasi gel topical yang mengandung ekstrak <i>Moringa oleifera</i> dengan dosis 5%, 10%, dan 15% memiliki aktivitas antibakteri dan efektif untuk memusnahkan <i>Staphylococcus epidermidis</i> ¹⁴ .

Beberapa penelitian terdahulu telah menggunakan daun Kelor untuk terapi antiinflamasi, seperti penelitian oleh mengurangi ekspresi gen MMP-3 dan meningkatkan densitas *collagen*⁷, memiliki sifat antioxidant, serta memiliki aktifitas sebagai antibakteri untuk memusnahkan *Staphylococcus epidermidis* ¹⁴. Namun belum banyak penelitian yang membahas pengaruh daun kelor pada kulit yang rusak akibat paparan sinar UVB.

Penelitian oleh Xu et al. (2019) menunjukkan bahwa tumbuhan kelor memiliki aktivitas antioxidant dan antiinflamasi pada daun, biji, dan akarnya.¹⁰ Sementara itu, penelitian oleh Dyah et al. (2024) menunjukkan bahwa ekstrak flavonoid kuersetin yang terdapat pada daun kelor memiliki kadar tertinggi setelah ekstraksi selama 72 jam.¹¹ Namun kedua penelitian ini hanya mengukur kadar flavonoid yang terdapat pada bagian-bagian tumbuhan, dan tidak menghubungkannya dengan efek anti inflamasi yang dibutuhkan kulit.

Pada penelitian terdahulu, variasi dosis beragam mulai dari 5% sampai dengan 15%. Penelitian oleh Robby et al. (2022) menggunakan dosis 5% hingga 10%, dan hasil terbaik ditunjukkan oleh ekstrak daun kelor dengan dosis 10%.¹³ Penelitian oleh Pakan et al. (2023) juga memakai ekstrak dengan dosis 5%, 10%,

dan 15% dan memberikan hasil yang signifikan berbeda dibanding kontrol negatif.¹⁴ Karena itu, penelitian ini menetapkan rentang dosis yang lebih tinggi, yakni 10% dan 15%, untuk mengevaluasi efektivitas antiinflamasi pada konsentrasi yang lebih potensial.

Berdasarkan penelitian-penelitian terdahulu, belum ada penelitian yang menggunakan daun kelor sebagai terapi untuk mengatasi paparan UVB sebagai penyebab penuaan dini pada kulit dengan model preventif selama 14 hari¹⁵. Karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh serum ekstrak daun kelor sebagai terapi pencegahan *photoaging* selama 14 hari.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1. Teoritis

Penelitian ini memberikan kontribusi ilmiah dalam memperdalam pemahaman tentang peran serum ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) sebagai agen alami untuk menangani *photoaging*. Hasil penelitian ini juga dapat memperkaya literatur mengenai kadar IL-6 sebagai parameter pengurangan radang dan MDA sebagai parameter pengurangan stres oksidatif.

1.5.2. Praktis

Penelitian ini memiliki aplikasi praktis dalam pengembangan produk penanganan *photoaging* yang berbasis bahan alami yang efektif dan aman. Serum ekstrak daun kelor memiliki potensi menjadi alternatif untuk memulihkan kulit yang telah terpapar UVB dan juga mengurangi risiko efek samping karena memiliki bahan dasar yang natural.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Interleukin-6 (IL-6)

Interleukin-6 (IL-6) adalah sitokin pleiotropik yang berperan dalam respons imun, inflamasi, hematopoiesis, dan metabolisme. IL-6 diproduksi oleh berbagai sel, termasuk makrofag, limfosit, fibroblas, dan sel endotel, terutama sebagai respons terhadap infeksi, cedera jaringan, atau stres oksidatif¹⁶.

IL-6 akan diproduksi jika ada faktor eksternal yang mempengaruhi tubuh. Patogen (virus, bakteri) mengaktifkan reseptor pengenal pola (PRRs) seperti *Toll-like receptors* (TLRs), yang memicu jalur NF- κ B dan MAPK, meningkatkan transkripsi gen IL-6. Molekul seperti *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) (misalnya, mtDNA, HMGB1) dari sel yang rusak juga merangsang produksi IL-6 melalui jalur serupa. Faktor lainnya adalah paparan UVB menyebabkan kerusakan DNA sel kulit (CPD), menginduksi ekspresi IL-6 melalui stabilisasi mRNA (regulasi pascatranskripsi)¹⁶.

2.1.1. Mekanisme Produksi IL-6

Paparan UVB (280–320 nm) meningkatkan ekspresi IL-6 pada keratinosit manusia melalui kerusakan DNA, terutama pembentukan cyclobutane pyrimidine dimers (CPD). Kerusakan DNA ini mengaktifkan jalur pensinyalan yang meningkatkan stabilitas mRNA IL-6 secara pascatranskripsi, bukan melalui

peningkatan transkripsi gen. UVB juga menginduksi IL-6 melalui aktivasi jalur inflamasi seperti NF- κ B dan MAPK, yang memicu pelepasan sitokin proinflamasi lainnya (TNF- α , IL-1 β). Inflamasi akan semakin merusak kulit dengan dipicu oleh IL-6 yang meningkatkan produksi ROS¹⁷⁻²⁰.

IL-6 memperparah inflamasi kronis dengan menarik sel imun ke dermis dan menghambat regenerasi jaringan, mempercepat foto-penuaan (*photoaging*). Bahkan pada tingkat sistemik, IL-6 dapat menyebabkan gejala seperti demam dan peningkatan protein fase akut (misalnya, C-reactive protein)^{16,20}.

2.2 MDA

2.2.1. Definisi dan Pembentukan MDA

Malondialdehyde (MDA) adalah produk akhir peroksidasi lipid, yang dihasilkan ketika radikal bebas (ROS) menyerang membran sel yang kaya asam lemak tak jenuh. Paparan UVB meningkatkan produksi ROS seperti superoksida (O_2^-) dan hidrogen peroksida (H_2O_2), yang mengoksidasi lipid membran sel dan menghasilkan MDA^{19,20}. MDA berfungsi sebagai indikator stres oksidatif yang terjadi di dalam sel.

Pembentukan MDA secara langsung berhubungan dengan kerusakan jaringan kulit, terutama pada struktur lipid membran. MDA, yang terbentuk dari produk peroksidasi asam lemak tak jenuh, kemudian

berperan dalam memperburuk kondisi seluler, dengan mengaktifkan jalur pensinyalan yang berkaitan dengan inflamasi. MDA berperan sebagai pemicu bagi pembentukan lebih banyak ROS dan menyebabkan peningkatan kerusakan oksidatif. Sel-sel kulit yang terpapar MDA menjadi lebih rentan terhadap kerusakan lebih lanjut, memicu proses peradangan yang berkelanjutan dan berkontribusi pada penuaan kulit.

2.2.2. Dampak MDA pada Struktur Kulit

MDA memiliki dampak signifikan terhadap struktur kulit, terutama pada membran sel dan matriks ekstraseluler (ECM). Ketika MDA menumpuk di dalam sel kulit, ia dapat merusak integritas membran sel, mengganggu fungsi penghalang kulit, dan memicu apoptosis sel keratinosit. Kerusakan pada lapisan terluar kulit ini mengurangi kemampuannya untuk mempertahankan kelembapan dan melindungi jaringan dari ancaman eksternal, seperti radiasi UV dan patogen. Seiring waktu, proses ini berkontribusi pada penurunan kesehatan kulit secara keseluruhan, yang ditandai dengan kekeringan dan peningkatan sensitivitas.^{19,20}

MDA juga berperan dalam degradasi kolagen dan elastin melalui aktivasi matrix metalloproteinases (MMPs). MMPs, yang teraktivasi oleh MDA, merusak matriks ekstraseluler dan mempercepat hilangnya kolagen, yang merupakan komponen utama dari struktur kulit yang memberikan kekuatan dan elastisitas. Degradasi kolagen dan elastin ini

menyebabkan munculnya kerutan, penurunan kekencangan kulit, dan penurunan elastisitas, yang semuanya merupakan tanda utama dari proses penuaan kulit yang dipercepat oleh stres oksidatif.^{19,20}

2.2.3. Peran MDA dalam Proses *Photoaging* dan Pendekatan Terapeutik

Dampak MDA pada struktur kulit tidak hanya terbatas pada kerusakan membran sel dan degradasi kolagen, tetapi juga melibatkan peradangan yang memperburuk proses penuaan kulit. MDA berperan dalam meningkatkan produksi sitokin proinflamasi seperti IL-6 dan TNF- α , yang berkontribusi pada peradangan kronis di kulit. Peradangan yang berkelanjutan ini memperburuk stres oksidatif, menyebabkan kerusakan tambahan pada jaringan kulit, dan menghambat kemampuan kulit untuk memperbaiki diri. Inflamasi juga berperan dalam mengaktifkan jalur pensinyalan yang mempercepat proses penuaan kulit, seperti kerutan dan kehilangan elastisitas.^{19,20}

Terapi berbasis antioksidan menjadi pendekatan yang menjanjikan untuk mengatasi dampak MDA. Antioksidan seperti vitamin C, vitamin E, polifenol, serta ekstrak daun kelor menetralkan ROS dan mengurangi pembentukan MDA. Terapi ini membantu memperlambat degradasi kolagen dan mendukung fungsi penghalang kulit. Terapi ini juga mengurangi peradangan dan meningkatkan kemampuan kulit untuk melawan kerusakan lebih lanjut akibat paparan UV-B. Bahan aktif yang mengandung antioksidan membantu memperbaiki struktur kulit yang

rusak, mencegah peradangan lebih lanjut, dan mengurangi tanda-tanda penuaan kulit yang disebabkan oleh paparan lingkungan.^{19,20}

2.3 Daun Kelor

Kelor berasal dari India bagian utara dan Pakistan kemudian menyebar ke Asia Tenggara. Kelor dapat beradaptasi dengan baik di lingkungan tropis termasuk di Indonesia dan umumnya dipakai sebagai sayur. Habitus kelor berupa pohon dengan tinggi 3-10 m, batang berkayu, bulat, bercabang, berbintik hitam dan berwarna putih kotor, abu-abu. Pada umumnya bagian tanaman yang digunakan adalah daun²¹.

Kandungan kimia daun kelor terutama adalah protein, vitamin A, B dan C, β -karoten dan flavonoid. Tanaman kelor memiliki banyak manfaat dan telah digunakan sejak jaman dahulu sebagai obat untuk mencegah atau menyembuhkan berbagai penyakit. Masyarakat sering memanfaatkan tanaman kelor untuk menyembuhkan luka, beri-beri, demam, gangguan kulit, pegal linu, atau kurang darah²¹.



Gambar 2. 1 Daun Kelor (*Moringa oleifera*)²²

Divisi : Tracheophyta
 Sub divisi : Spermatophytina
 Kelas : Magnoliopsida
 Bangsa : Brassicales
 Suku : Moringaceae
 Marga : *Moringa*
 Jenis : *Moringa oleifera* Lam.
 Sinonim : *Moringa pterygosperma* Gaertn.

Guilandina moringa L.

Secara kualitatif, kandungan kimia daun kelor adalah protein dan sejumlah vitamin A, B dan C; β -karoten; santin: neosantin, violasantin dan zeasantin(14); flavonoid: astragalin serta glikosida flavonoid dari kuersetin, kaemferol, mirisetin dengan berbagai ragam gula dengan kombinasi gula glukosa, galaktosa, ramnosa, silosa, dan apiosa(15); kumarin;steroid; alkaloid trigonelin; dan asam lemak²¹. Penelitian lain menyebutkan bahwa daun kelor

memiliki kandungan protein (22,99–29,36%), lemak (4,03–9,51%), serat (7,0–8,0%), karbohidrat (62,0–66,0%), abu (6,0–7,0%), dan kandungan lain seperti Vitamin C (187,96-278,50 mg/100 g), kalsium (1,322-2,645%), fosfat (0,152-0,304 g/100 g), kalium (1,317-2,025 g/ 100 g)²³. Sementara kandungan fitokimia pada daun kelor terdiri dari alkaloid (10,73%), saponin (18,46%), Total flavonoids (8,53%) dan tanin (11,43%)²⁴.

Beberapa penelitian telah membuktikan manfaat daun kelor secara ilmiah. Daun kelor telah diuji secara praklinik dan uji klinik, memiliki khasiat sebagai antianemia, antidiabetes mellitus, antihiperlipidemia, antikonvulsan serta antiinflamasi dan analgesik. Berdasarkan penelitian terdahulu, ekstrak etanol daun kelor efektif dalam menghambat udema yang terjadi pada tikus jantan²¹.

2.3.1. Zat aktif pada Kelor yang berperan dalam penyembuhan kulit.

Beberapa zat aktif yang dimiliki kelor telah diteliti memiliki peran dalam penyembuhan kulit. Zat aktif yang pertama ialah flavonoid (Quercetin, Kaempferol, Rutin). Zat aktif ini memiliki peran menghambat produksi IL-6 dengan memblokir jalur NF- κ B dan MAPK, mengurangi peradangan kulit akibat paparan UVB atau infeksi bakteri serta menurunkan kadar MDA melalui aktivitas antioksidan yang kuat, melindungi membran sel dari peroksidasi lipid⁶.

Zat aktif lain adalah Isothiocyanates (Niazimin A&B), yang memodulasi respons inflamasi dengan mengurangi ekspresi IL-6 dan TNF- α pada luka kulit dan menghambat pembentukan ROS (spesies oksigen reaktif) yang memicu peningkatan MDA. Kandungan Asam Oleat dan Vitamin E juga mempercepat regenerasi kulit dengan meningkatkan sintesis kolagen dan mengurangi stres oksidatif yang dibuktikan dengan penurunan MDA pada percobaan terhadap tikus^{6,25}.

2.3.2. Studi Terdahulu mengenai Penggunaan Daun Kelor.

Beberapa penelitian terdahulu telah memakai daun kelor dalam menyembuhkan kulit. Ekstrak daun kelor dapat bersifat anti-inflamasi dengan menekan produksi IL-6 pada keratinosit yang terpapar UVB atau bakteri *Propionibacterium acnes*. Polifenol dalam daun Kelor (seperti asam klorogenat) juga terbukti menetralkan radikal bebas, mengurangi kadar MDA, dan mencegah kerusakan jaringan kulit^{10,26-29}.

Penelitian terdahulu juga sudah membuktikan keamanan dari konsumsi daun kelor. Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kelor dengan dosis hingga 2000 mg/kgBB tidak menunjukkan efek toksik akut seperti kematian. Walau demikian, pemberian dengan dosis yang besar menunjukkan adanya gejala kerusakan

organ secara mikroskopik serta penurunan jumlah sel normal pada hati³⁰.

2.4 UVB

UVB (Ultraviolet B) adalah jenis radiasi ultraviolet dengan panjang gelombang 280–320 nm, yang memiliki energi lebih tinggi dibanding UVA tetapi penetrasi lebih dangkal, terutama memengaruhi epidermis dan lapisan atas dermis. UVB merupakan penyebab utama sunburn dan berperan besar dalam risiko kanker kulit^{3,4}.

UVB bisa membawa dampak yang buruk untuk kulit. UVB menyebabkan mutasi DNA seperti *cyclobutane pyrimidine dimers* (CPD) dan *pyrimidine (6-4) pyrimidone photoproducts*, yang memicu apoptosis sel (sunburn cells) dan karsinogenesis. Selain itu, UVB menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS) yang merusak kolagen, elastin, dan lipid membran sel, mempercepat penuaan kulit (*photoaging*). Peroksidasi lipid oleh ROS menghasilkan malondialdehyde (MDA), penanda stres oksidatif yang berkorelasi dengan tingkat kerusakan sel. UVB juga memicu pelepasan sitokin pro-inflamasi (IL-6, TNF- α , IL-1 α) dan meningkatkan aliran darah lokal, menyebabkan eritema (kemerahan) dan edema.²⁻⁵

Penelitian telah menunjukkan bahwa paparan UVB meningkatkan ekspresi IL-6 dalam keratinosit dan fibroblas. IL-6 memperparah inflamasi kronis dan menghambat regenerasi jaringan, mempercepat *photoaging*. Paparan UVB akan mengakibatkan peroksidasi lipid yang meningkatkan kadar MDA secara

signifikan. MDA digunakan sebagai biomarker kerusakan oksidatif dalam penelitian kulit, termasuk *photoaging* dan karsinogenesis. Inflamasi yang dipicu IL-6 memperburuk produksi ROS, sementara akumulasi MDA memperparah kerusakan membran sel, menciptakan siklus destruktif.⁵

2.5 *Photoaging*

Kulit, yang merupakan bagian terbesar dari tubuh, umumnya menunjukkan tanda-tanda penuaan sebagai proses penuaan. Proses penuaan kulit dapat terjadi karena factor internal seperti genetik dan eksternal seperti pengaruh lingkungan dan gaya hidup. Pengaruh lingkungan yang parah, seperti paparan kronis radiasi Ultraviolet (UV), yang dapat menyebabkan penuaan dini yang disebut *photoaging*. *Photoaging* memiliki banyak tanda-tanda kerusakan kulit, seperti keriput, bintik hitam, kulit yang kering dan kasar, serta pigmentasi^{31,32}.

Photoaging melibatkan radiasi UV (UVA/UVB) yang menembus epidermis dan dermis menyebabkan mutasi DNA, pembentukan radikal bebas (ROS), serta kerusakan kolagen dan elastin. UV menginduksi *matrix metalloproteinases* (MMPs) yang memecah kolagen dan menghambat sintesis kolagen baru sehingga elastisitas kulit berkurang dan menjadi kendur. Paparan UV juga akan memicu pelepasan sitokin proinflamasi seperti IL-6 dan TNF- α yang memperparah kerusakan jaringan. Selain itu, UVB akan menghasilkan radikal bebas (ROS) yang mengoksidasi lipid membran sel, protein, dan DNA. ROS juga menghambat enzim antioksidan alami (SOD,

CAT) yang berperan untuk mencegah kerusakan kolagen dan elastin di dermis³¹⁻³³.

Diferensiasi keratinosit dari epidermis juga terganggu oleh sinar ultraviolet. Ekspresi kolagen tipe VII dalam keratinosit menurun di area terpapar ultraviolet. Kolagen tersebut merupakan penahan fibril di persimpangan dermis dan epidermis. Berkurangnya produksi kolagen tipe VII berkontribusi terhadap pembentukan keriput karena hubungan dermis dan epidermis melemah^{34,35}.

Elastosis adalah karakteristik penuaan kulit berupa penumpukan jaringan elastin abnormal di lapisan dermis. Sinar ultraviolet meningkatkan ekspresi elastin empat kali lipat sehingga menimbulkan elastosis. Penurunan angiogenesis, penyimpangan ekspresi molekul adhesi, dan kerusakan fungsi vasodilatasi menyebabkan disfungsi edotel sehingga fungsi mikrovaskular menurun^{34,35}.

Jika kulit terus terpapar oleh UV, kulit akan semakin rusak. Efek jangka pendek dari *Photoaging* adalah kulit kering, kusam, dan erythema (kemerahan). Sementara itu, efek jangka panjangnya adalah keriput dalam dan elastosis (penebalan jaringan ikat), hiperpigmentasi seperti bintik hitam, dan pori-pori membesar akibat kerusakan serat elastin. *Photoaging* juga dapat meningkatkan risiko kanker kulit karena akumulasi mutase DNA.³⁶

2.6 Serum

Serum wajah adalah sediaan kosmetik dengan tekstur ringan (cair, gel, atau emulsi) yang mengandung konsentrasi tinggi bahan aktif seperti

antioksidan, peptida, dan vitamin. Berbeda dengan pelembab, serum tidak mengandung bahan oklusif (misalnya petrolatum) sehingga lebih mudah menembus lapisan kulit. Selain serum wajah, serum juga dapat menjadi media pengobatan, seperti serum media yang mengandung antibodi untuk imunitas pasif (contohnya serum anti tetanus).

Pada penelitian terdahulu, Serum dengan ekstrak *Moringa oleifera* sudah dipakai dan efektif dalam menangani permasalahan kulit. Ekstrak ini dibuat dari berbagai bagian *Moringa oleifera*, seperti daun, biji, dan bahkan minyaknya. Zat bioaktif utama yang dikandung oleh ekstrak daun kelor adalah flavonoid (Quercetin, Kaempferol, Rutin) yang dapat menghambat produksi IL-6 dengan memblokir jalur NF- κ B dan MAPK, mengurangi peradangan kulit akibat paparan UVB serta menurunkan kadar MDA, Zat bioaktif Isothiocyanates (Niazimin A&B), yang memiliki efek anti-inflamasi dengan mengurangi ekspresi IL-6 dan TNF- α dan menghambat pembentukan ROS, serta Vitamin E dan β -karoten yang memiliki sifat antioksidan^{6,25}.

BAB 3

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori

Kelor merupakan tumbuhan yang telah cukup banyak dipakai sebagai pengobatan. Berdasarkan penelitian terdahulu, Zat aktif yang dikandung tumbuhan kelor juga memiliki aktifitas sebagai antiinflamasi dan antioksidan. Kandungan fitokimia pada daun kelor terdiri dari alkaloid (10,73%), saponin (18,46%), total flavonoids (8,53%) dan tanin (11,43%)²⁴. Zat aktif flavonoid (quercetin, kaempferol, rutin) peran menghambat produksi IL-6 dengan memblokir jalur NF- κ B dan MAPK, mengurangi peradangan kulit akibat paparan UVB atau infeksi bakteri serta menurunkan kadar MDA melalui aktivitas antioksidan yang kuat, melindungi membran sel dari peroksidasi lipid.⁶

Zat aktif lain adalah *isothiocyanates* (Niazimin A&B), yang memodulasi respons inflamasi dengan mengurangi ekspresi IL-6 dan TNF- α pada luka kulit dan menghambat pembentukan ROS (spesies oksigen reaktif) yang memicu peningkatan MDA. Kandungan asam oleat dan vitamin E juga mempercepat regenerasi kulit dengan meningkatkan sintesis kolagen dan mengurangi stres oksidatif yang dibuktikan dengan penurunan MDA pada percobaan terhadap tikus^{6,25}.

Photoaging dapat terjadi jika kulit terus menerus menerima rangsangan dari luar, seperti paparan sinar radiasi UVB. UVB menembus epidermis dan menyebabkan mutasi DNA sel keratinosit, seperti pembentukan *cyclobutane pyrimidine dimers* (CPD) dan *6-4 photoproducts*. Kerusakan ini mengaktifkan apoptosis sel (*sunburn cells*) dan memicu respons perbaikan DNA yang tidak sempurna, berpotensi menyebabkan karsinogenesis. UVB akan menghasilkan radikal bebas (ROS) yang mengoksidasi lipid membran sel, protein, dan DNA. ROS juga menghambat enzim antioksidan alami (SOD, CAT) yang berperan untuk mencegah kerusakan kolagen dan elastin di dermis³³.

UVB mengaktifkan enzim *matrix metalloproteinases* (MMPs) yang memecah kolagen dan menghambat sintesis kolagen baru, menyebabkan kulit kendur dan keriput. Kerusakan sel memicu pelepasan sitokin pro-inflamasi (IL-6, TNF- α) melalui jalur NF- κ B, memperburuk peradangan dan mempercepat penuaan kulit. Akumulasi *malondialdehyde* (MDA) sebagai produk peroksidasi lipid semakin merusak membran sel³⁷.

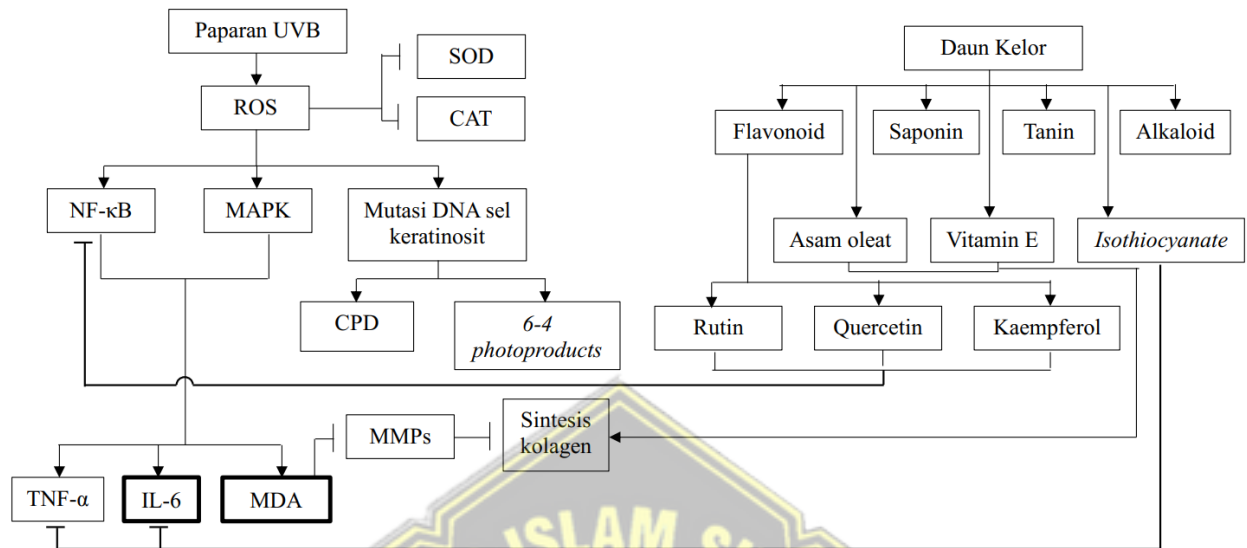
Diferensiasi keratinosit dari epidermis juga terganggu oleh sinar ultraviolet. Ekspresi kolagen tipe VII dalam keratinosit menurun di area terpapar ultraviolet. Kolagen tersebut merupakan penahan fibril di persimpangan dermis dan epidermis. Berkurangnya produksi kolagen tipe VII berkontribusi terhadap pembentukan keriput karena hubungan dermis dan epidermis melemah^{34,35}.

Elastosis adalah karakteristik penuaan kulit berupa penumpukan jaringan elastin abnormal di lapisan dermis. Sinar ultraviolet meningkatkan ekspresi

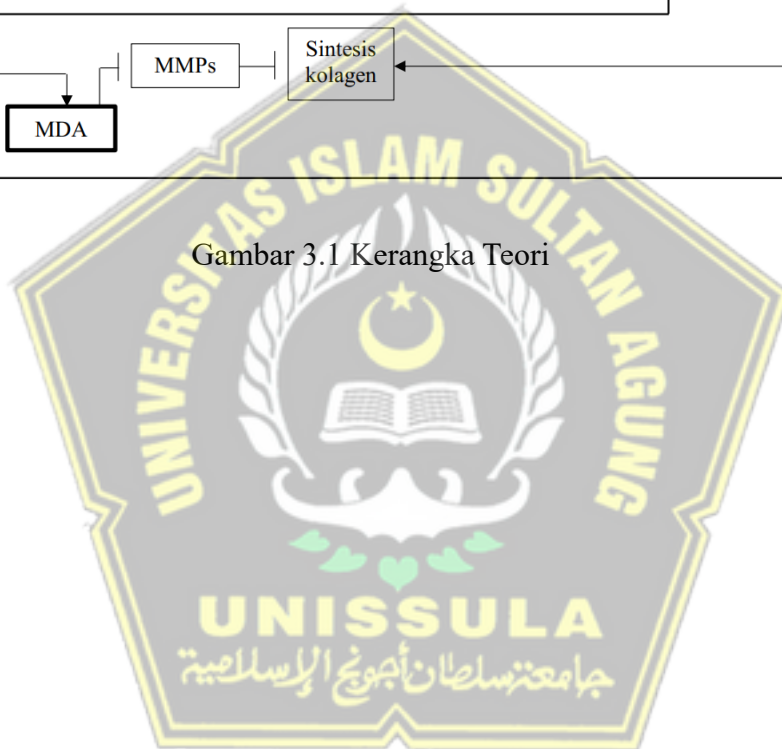
elastin empat kali lipat sehingga menimbulkan elastosis. Penurunan angiogenesis, penyimpangan ekspresi molekul adhesi, dan kerusakan fungsi vasodilatasi menyebabkan disfungsi edotel sehingga fungsi mikrovaskular menurun^{34,35}.

Tumbuhan kelor yang memiliki kandungan yang bersifat anti-inflamasi dan antioksidan ini sangat berpotensi dalam memulihkan kulit yang telah rusak karena *photoaging*. Parameter untuk memastikannya adalah dengan mengukur turunnya kadar IL-6 dan kadar MDA.

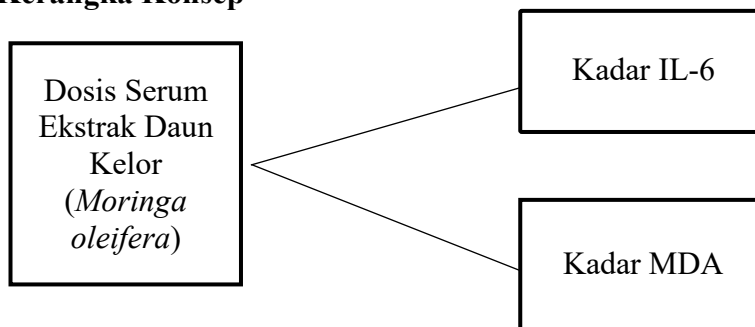




Gambar 3.1 Kerangka Teori



3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3. 2 Kerangka konsep

3.3 Hipotesis

Serum ekstrak *Moringa oleifera* dapat memberikan pengaruh pada kadar IL-6 dan MDA pada kulit tikus Wistar yang terpapar UVB.

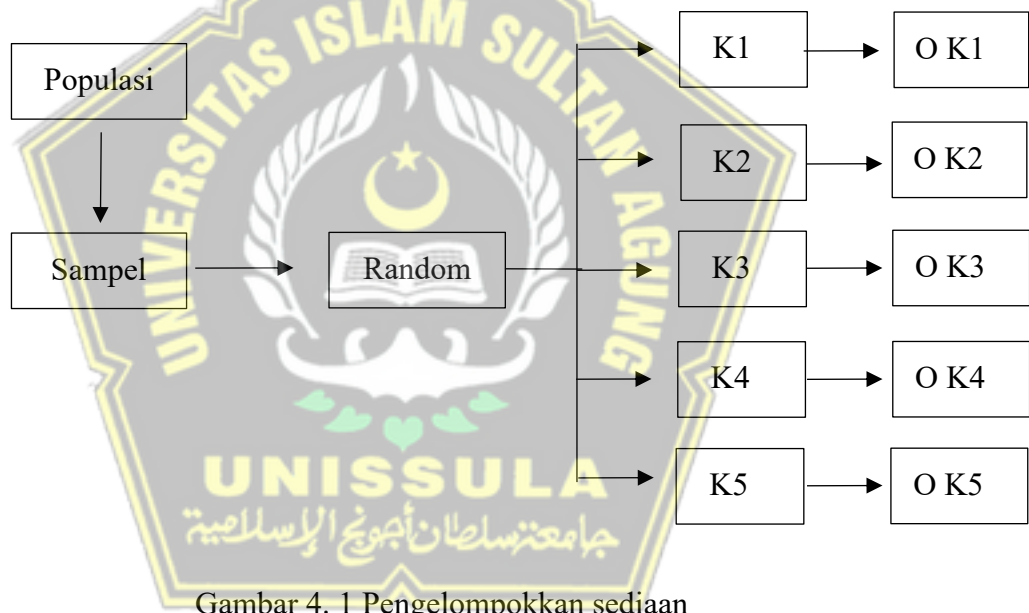


BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vivo* yang digunakan adalah metode *Post Test Only Control Group Design* yang menggunakan objek penelitian tikus jantan galur wistar.



Gambar 4. 1 Pengelompokkan sediaan

Keterangan :

- K1 : Kontrol sehat, yaitu tikus sehat tanpa perlakuan.
- K2 : Kelompok kontrol negatif, tikus diberi paparan UVB dan diberikan basis serum.
- K3 : Kelompok kontrol positif, tikus diberi paparan UVB dan diolesi niacinamide gel

- d. K4 : Kelompok perlakuan 1, tikus diberi paparan sinar UVB dan diolesi serum ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) 10% secara topikal.
- e. K5 : Kelompok perlakuan 2, tikus diberi paparan sinar UVB dan diolesi serum ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) 15% secara topikal.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1. Populasi

Populasi penelitian yaitu tikus jantan galur Wistar berumur 2-3 bulan, dengan berat 200-250 gram. Tikus penelitian ini diperoleh dari “Kemuning – *Your Partner for Health Research*” sebagai penyedia hewan percobaan yang terpercaya dan menjadi benchmark dalam penelitian biomedis. Tikus dipelihara dengan pakan pellet yang terstandar dan air minum, suhu ruangan pemeliharaan berkisar 28° – 32° C dengan ventilasi dan cahaya ruangan yang cukup. Sebelum dilakukan percobaan, tikus diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari.

4.2.2. Besar Sampel

Jumlah sampel dapat dihitung menggunakan rumus Federer (1991) yang lebih sering dipakai untuk menghitung sampel penelitian eksperimental, terutama untuk uji beda antara beberapa kelompok perlakuan.

Rumus Federer (1991):

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

t : Jumlah kelompok

n : Jumlah sample tiap kelompok

$$(5-1) (n-1) \geq 15$$

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

$$n \geq 4,75$$

Berdasarkan rumus Federer, didapatkan minimal hewan untuk digunakan dalam percobaan untuk 5 kelompok pengujian adalah 5 ekor tikus. Pada percobaan ini, akan digunakan 5 ekor tikus Jantan dan cadangan 1 ekor pada setiap kelompoknya.

4.2.3. Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Teknik pengambilan sampel penelitian ini menggunakan cara *simple random sampling*. Tikus jantan galur wistar sebanyak 25 ekor yang masuk kriteria inklusi dibagi menjadi 5 kelompok secara acak dimana setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus dan cadangan 1 ekor, dengan 2 kelompok yaitu kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan.

4.2.4. Kriteria Inklusi

- a. Tikus Wistar jantan dengan berat badan 200-250 gram dengan umur 2-3 bulan).
- b. Tikus dalam kondisi sehat dan bebas dari penyakit kulit.
- c. Secara makroskopis tikus tidak ada kelainan morfologi

4.2.5. Kriteria Eksklusi

- a. Tikus yang menunjukkan tanda-tanda sakit selama perlakuan.

- b. Tikus yang menunjukkan gejala stress selama perlakuan.
- c. Tikus memiliki kelainan anatomis.

4.2.6. Drop Out

- a. Tikus mati saat penelitian berlangsung
- b. Tikus menjadi sakit selama perlakuan

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah plasebo dengan menggunakan basis serum tanpa ekstrak, gold standard berupa niacinamide gel, dan serum ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan variasi dosis 10%, dan 15%. Konsentrasi ini dipilih karena pada penelitian sebelumnya ekstrak daun kelor menggunakan dosis di dalam rentang 5-10% untuk pengadministrasian secara topikal.

Dalam penelitian untuk melihat efek antiinflamasi, konsentrasi yang paling efektif dan memberikan perbedaan signifikan pada sediaan emulgel ekstrak daun kelor adalah 10%, dibandingkan dengan konsentrasi 5% dan 7,5%¹³. Penelitian ini membuktikan bahwa variasi konsentrasi dapat memberikan efektifitas yang berbeda.

4.3.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar IL-6 dan MDA.

4.3.3. Variabel Prakondisi

Variabel prakondisi dalam penelitian ini adalah paparan sinar UVB. Hewan penelitian akan dipaparkan dengan sinar UVB dengan intensitas 70 mJ/cm^2 dengan jarak lampu 40 cm. Sinar UVB dipaparkan selama 15 menit setiap harinya selama 14 hari.

4.3.4. Definisi Operasional

4.3.4.1. Serum Ekstrak Daun Kelor

Serum ekstrak daun kelor merupakan sediaan topical yang diformulasikan dengan ekstrak daun kelor yang dicampurkan ke dalam base serum dengan bahan pelengkap seperti Carbopol 940, Propilen Glikol, Gliserin, TEA, dan air murni. Serum dibuat dengan konsentrasi 10% dan 15%, dan kemudian dicampur secara homogen dan dioleskan pada kulit punggung tikus yang telah dipapar sinar UVB, satu kali sehari selama 14 hari.

Satuan : Persentase (%)

4.3.4.2. Interleukin – 6 (IL-6)

Interleukin-6 (IL-6) adalah sitokin yang berperan dalam respons imun dan inflamasi. Kadar IL-6 yang tinggi menjadi parameter terjadinya peradangan ataupun cedera jaringan. Kadar IL-6 dianalisis dengan *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) menggunakan sampel jaringan kulit tikus di hari ke-15. Hasil ELISA dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 450 nm.

ELISA kit yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari *Bioassay Technology Laboratory*.

Satuan : pg/ml

4.3.4.3.MDA

Malondialdehyde (MDA) adalah produk akhir peroksidasi lipid, yang dihasilkan ketika radikal bebas (ROS) menyerang membran sel yang kaya asam lemak tak jenuh. Kadar MDA yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan membrane sel dan mengganggu fungsi pelindung kulit. Kadar MDA dianalisis dengan *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) menggunakan sampel jaringan kulit tikus di hari ke-15. Hasil ELISA dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 450 nm. ELISA kit yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari *Bioassay Technology Laboratory*.

Satuan : pg/ml

4.4 Alat dan Bahan penelitian

4.4.1. Alat

1. Kandang tikus dengan ukuran 40x30x 30 cm beserta tempat pakannya,
2. Timbangan analitik
3. Sarung tangan,
4. Lampu UVB untuk menginduksi *photoaging*
5. *Centrifuge* untuk memisahkan supernatant sampel jaringan kulit

6. Tabung *ependorf*,
7. Mikropipet dan tip
8. Inkubator untuk menginkubasi sampel
9. Freezer dengan suhu -20°C
10. spektrofotometer,
11. ELISA *reader*,
12. ELISA analisis kit
13. Plastik ELISA Pre-coated plate
14. *Microplate* (96-wellplate)
15. Alat bedah minor (pisau scalpel, pinset)
16. *Water bath*,
17. Gelas kimia,
18. *Sputit* dan *needle*,
19. Labu erlenmeyer,
20. Tabung reaksi
21. Kaca objek dan kaca penutup
22. Chamber untuk pewarnaan
23. Microtom dan pisau microtom
24. Termometer dan hygrometer
25. Mikroskop dan kamera dokumentasi visual
26. *Punch biopsy*

4.4.2. Bahan

1. Ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) (PT Inbi Nusantara Sejahter)
2. Base Serum (Laboratorium IBL Fakultas Kedokteran Unissula)
3. Niacinamide gel (Niacef)
4. Larutan formalin 10% untuk fiksasi jaringan kulit sebelum analisis histopatologi
5. Streptavidin-HRP
6. Substrat solusi A dan B
7. Reagen *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) untuk pengukuran kadar IL-6 dan MDA
8. Antibodi deteksi
9. Larutan *Phosphate-Buffered Saline* (PBS) untuk ekstraksi protein jaringan kulit.
10. Buffer pembilas
11. Larutan pemberhenti reaksi (*Stop Solution*)
12. Air suling/air deionisasi
13. Aseton
14. Asam asetat
15. Asam klorida

4.5 Prosedur Penelitian dan Alur Kerja

4.5.1. Perolehan *Ethical Clearance*

Ethical clearance penelitian diajukan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Protokol yang digunakan disusun berdasarkan prinsip 3R (*Replacement, Reduction, Refinement*), yang bertujuan untuk meminimalkan penderitaan hewan serta menjaga integritas ilmiah dan etika dari data yang dihasilkan

4.5.2. Cara Pembuatan Ekstrak Daun Kelor

Untuk menjamin efektivitas, keamanan, kualitas, dan stabilitas bahan aktif yang digunakan dalam penelitian ini, ekstrak daun kelor yang digunakan diperoleh dari PT Inbi Nusantara Sejahtera. Ekstrak daun kelor dilengkapi dengan *Certificate of Analysis (COA)* dan *Material Safety Data Sheet (MSDS)*. Penggunaan ekstrak bersertifikat ini bertujuan untuk menjaga konsistensi kualitas bahan aktif serta meningkatkan validitas hasil penelitian.

4.5.3. Pembuatan Sediaan Serum Ekstrak Daun Kelor

Pembuatan sediaan serum Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dilakukan dengan menggunakan Base Serum. Bahan baku serum berasal dari PT Derma Elok Farma dan pembuatan serum ekstrak kelor dilakukan di Laboratorium IBL FK Unissula. Komposisi basis serum yang dipakai memiliki meliputi Carbopol 940, Propilen Glikol, Gliserin, TEA, dan air murni.

Dosis ditentukan berdasarkan hasil ekstraksi. Dosis yang digunakan pada serum daun kelor di penelitian ini adalah 10% dan 15%. Sediaan serum 10% disiapkan dengan mencampurkan 2 g ekstrak etanol daun kelor dengan 18 g basis serum hingga mencapai total bobot 20 g. Serum dengan konsentrasi 15% diperoleh dari pencampuran 3 g ekstrak dengan 17 g basis serum. Pencampuran ekstrak daun kelor ini dilakukan secara kuantitatif untuk melihat dosis yang paling efektif.³⁸

4.5.4. Cara Persiapan Sebelum Perlakuan

Hewan uji berupa tikus Wistar jantan berumur 2-3 bulan dengan berat 200-250 g. Tikus diadaptasi selama 7 hari sebelum perlakuan. Tikus diberikan pakan standar dan minum ad libitum. Ruangan uji disesuaikan dengan suhu 28-32°C dan pencahayaan alami.

- a. Sampel penelitian yaitu hewan coba harus masuk dalam kriteria inklusi, diambil secara acak sederhana sebanyak 30 ekor dengan rincian terdapat 5 kelompok dengan jumlah masing-masing sampel tiap kelompoknya adalah 6 ekor, terdiri dari satu kelompok sehat, dua kelompok kontrol dan dua kelompok perlakuan, kemudian diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari.
- b. Sampel sebanyak 30 ekor tikus jantan galur Wistar diaklimatisasi di laboratorium.
- c. Hewan coba diberikan pakan standar terdiri dari protein 20-25%, pati 45-55%, lemak 10-12%, dan serat kasar 4% sebanyak 15-20 gram per hari serta minum air putih yang sama setiap hari.

- d. Tikus dibius secara intramuskular menggunakan campuran ketamin (60 mg/kgBB) dan xylazine (20 mg/kgBB) dengan volume sebanyak 0,5 mL.
- e. Rambut pada area punggung tikus dicukur hingga bersih dengan luas 5 × 5 cm.

4.5.5. Pemberian Terapi Preventif

Terapi preventif dilakukan dengan pemberian serum/krim 20 menit sebelum dipaparkan sinar UVB setiap harinya dengan dosis ± 2 mg/cm² pada punggung tikus yang terpapar. Pemberian terapi preventif ini diharapkan dapat mencegah kerusakan serta penuaan dini pada kulit tikus.

4.5.6. Cara Induksi *Photoaging*

Tikus yang telah diaklimatisasi akan dipaparkan dengan sinar UVB dengan intensitas 70 mJ/cm² dengan jarak lampu 40 cm. Dosis 70 mJ/cm² dipilih karena efektif dalam memicu perubahan histologis yang mencerminkan penuaan kulit. Sinar UVB dipaparkan selama 15 menit setiap harinya selama 14 hari.

4.5.7. Validasi Model *Photoaging*

Keberhasilan pembentukan model photoaging pada tikus dievaluasi melalui pendekatan makroskopis dan mikroskopis setelah paparan sinar UV-B.

- Validasi makroskopis dilakukan melalui pengamatan langsung pada kulit punggung tikus. Parameter yang dinilai meliputi munculnya

eritema, perubahan tekstur kulit menjadi kasar, pembentukan kerutan, deskuamasi, serta perubahan warna kulit berupa hiperpigmentasi. Evaluasi dilakukan dengan membandingkan kelompok K1 (kontrol sehat) dan K2 (kontrol positif). Model photoaging dinyatakan berhasil apabila kelompok K2 menunjukkan perubahan klinis kulit yang tidak ditemukan pada kelompok K1.

- Validasi mikroskopis dilakukan melalui pemeriksaan histopatologi jaringan kulit menggunakan pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE). Analisis difokuskan pada keberadaan dan jumlah sunburn cells pada jaringan kulit. Induksi photoaging dianggap tercapai apabila kelompok K2 memperlihatkan perubahan histologis yang berbeda secara jelas dibandingkan kelompok K1. Tahapan pemeriksaan histologi meliputi:
 - a. Fiksasi jaringan menggunakan larutan formalin 10% untuk mempertahankan struktur jaringan.
 - b. Dehidrasi dengan larutan etanol bertingkat guna menghilangkan kandungan air.
 - c. Inklusi parafin untuk memudahkan proses pemotongan jaringan.
 - d. Pemotongan jaringan menggunakan mikrotom untuk memperoleh irisan tipis.
 - e. Deparafinasi dengan xylol untuk menghilangkan parafin dari preparat.
 - f. Rehidrasi jaringan melalui larutan etanol hingga air.
 - g. Pewarnaan hematoxylin untuk menandai inti sel.
 - h. Pewarnaan eosin untuk mewarnai sitoplasma dan matriks ekstraseluler.

- i. Dehidrasi ulang dan mounting dengan media penutup preparat.
- j. Observasi mikroskopik menggunakan mikroskop cahaya untuk analisis histologis..

4.5.8. Terminasi dan Pengambilan Sampel

Pada hari ke-15, tikus diterminasi sesuai dengan prosedur etik, Kemudian, jaringan kulit dari area punggung yang telah dipapar sinar UVB diambil menggunakan alat *punch biopsy* berdiameter 5 mm³⁹, kemudian jaringan kulit punggungnya diambil dan segera dipisahkan bagian homogenat jaringan dengan ELISA untuk pemeriksaan kadar IL-6 dan MDA. Sampel jaringan segera dimasukkan ke dalam tabung vacutainer berisi EDTA untuk mencegah degradasi protein.

4.5.9. Prosedur Pengujian ELISA untuk Mengukur Kadar IL-6 pada Jaringan Tikus

Setelah perlakuan selesai, sampel jaringan kulit diambil di jam yang sama, didinginkan pada -20°C, dan dianalisis dengan metode ELISA untuk mengukur kadar IL-6. Pengambilan jaringan dilakukan dengan memotong jaringan pada area kulit menggunakan gunting steril. Jaringan ditimbang sebanyak 1 g, dimasukkan ke dalam tabung berisi PBS (pH 7,4), dan disonifikasi selama 15 detik hingga jaringan hancur.

1. **Persiapan Alat dan Bahan:** Siapkan mikroplate 96-well, antibodi capture dan deteksi spesifik MDA, standar MDA, substrat peroksidase (TMB), buffer pembilas, solusi penghenti, dan sampel jaringan tikus (supernatan homogenat).

2. **Persiapan Sampel:** Homogenkan jaringan tikus dan sentrifugasi untuk mengambil supernatan yang mengandung IL-6. Sampel disiapkan dengan volume 50-100 μL per sumur mikroplate. Sampel harus bebas hemolisis dan disimpan pada -20°C untuk menghindari degradasi.
3. **Coating:** Sebelumnya, mikroplate dilapisi antibodi monoklonal anti-IL-6 sebagai *capture antibody* .
4. **Inkubasi:** Sampel atau standar IL-6 ditambahkan ke dalam mikroplate dan diinkubasi (3–4 jam) untuk membentuk kompleks antibodi-antigen.
5. **Deteksi:** Antibodi poliklonal biotinilasi anti-IL-6 (*detection antibody*) ditambahkan, diikuti streptavidin-HRP untuk amplifikasi sinyal.
6. **Pencucian Plate:** Cuci plate dengan buffer pembilas untuk menghilangkan antibodi yang tidak terikat.
7. **Penambahan Substrat:** Tambahkan substrat peroksidase (TMB) dan inkubasi selama 15-30 menit hingga warna terbentuk dan dapat diukur pada 450 nm.
8. **Penghentian Reaksi:** Tambahkan solusi penghenti (asam sulfat) untuk menghentikan reaksi enzimatik.
9. **Analisis:** Kadar IL-6 dihitung dari kurva standar (rentang deteksi: 0.7–300 pg/mL)

4.5.10. Prosedur Pengujian ELISA untuk Mengukur Kadar MDA pada Jaringan Tikus

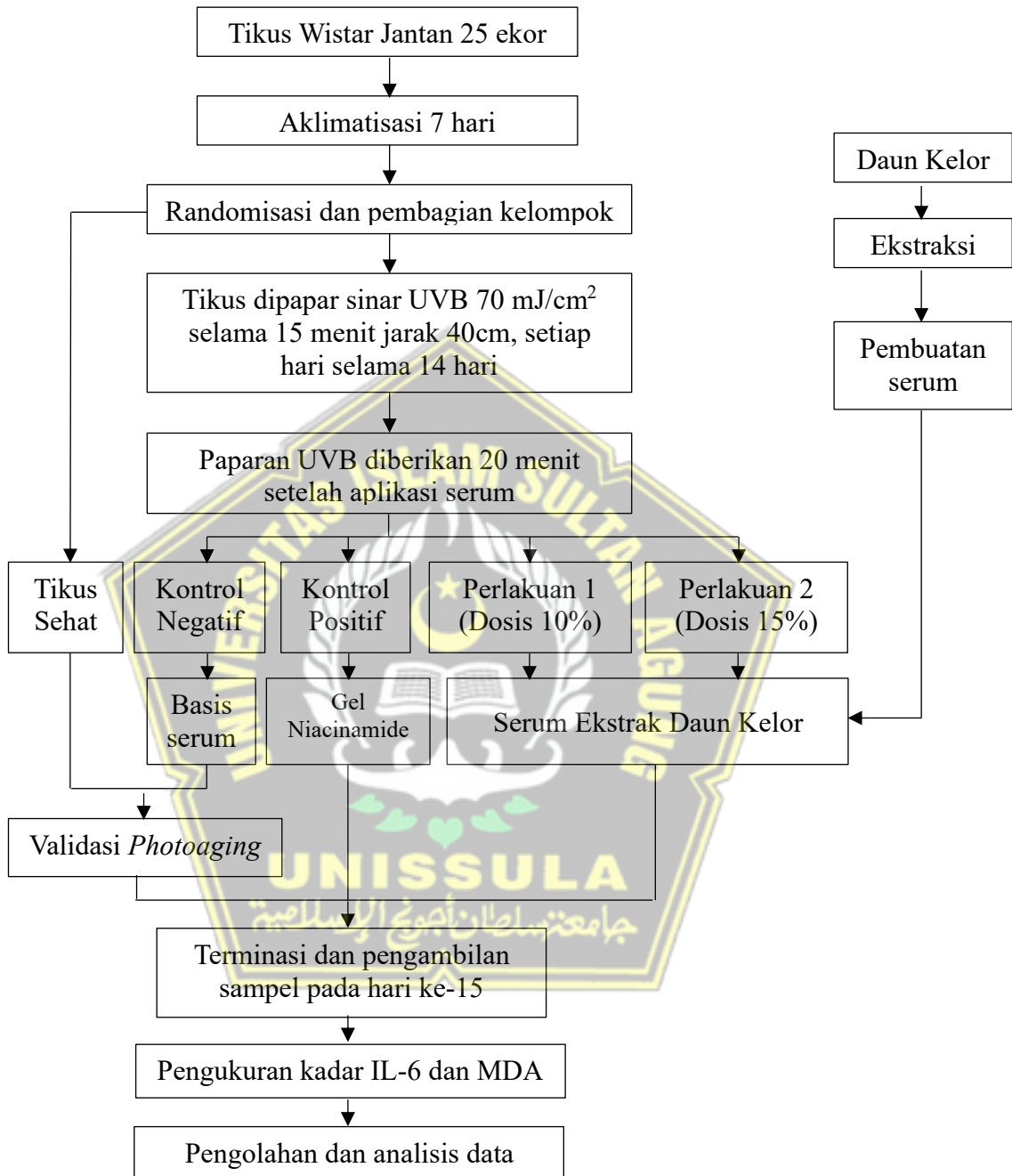
Setelah perlakuan selesai, sampel jaringan kulit diambil di jam yang sama dan segera dianalisis dengan metode ELISA untuk mengukur kadar MDA. Pengambilan jaringan dilakukan dengan memotong jaringan pada area kulit menggunakan gunting steril. Jaringan ditimbang sebanyak 1 g, dimasukkan ke dalam tabung berisi PBS (pH 7,4), dan disonifikasi selama 15 detik hingga jaringan hancur.

1. **Persiapan Alat dan Bahan:** Siapkan mikroplate 96-well, antibodi capture dan deteksi spesifik MDA, standar MDA, substrat peroksidase (TMB), buffer pembilas, solusi penghenti, dan sampel jaringan tikus (supernatan homogenat).
2. **Persiapan Sampel:** Siapkan homogenate jaringan atau serum yang diolah untuk ekstraksi MDA. Sampel harus merupakan sampel segar atau disimpan pada -80°C selama maksimal 1 bulan.
3. **Coating:** Sebelumnya, tambahkan $100\ \mu\text{L}$ antibodi anti-MDA ($1\text{--}10\ \mu\text{g/mL}$) ke sumur mikroplat, inkubasi semalam pada 4°C .
4. **Blocking:** Tambahkan $200\ \mu\text{L}$ blocking buffer, inkubasi 1 jam pada 37°C untuk menghambat ikatan nonspesifik.
5. **Kompetisi:** Campur $50\ \mu\text{L}$ sampel dengan $50\ \mu\text{L}$ biotin-MDA, inkubasi 1 jam pada 37°C .

6. **Pencucian Plate:** Cuci plate 3–5 kali dengan wash buffer untuk menghilangkan antibodi tidak terikat
7. **Deteksi:** Streptavidin-HRP ditambahkan dan diinkubasi selama 30 menit. Kemudian tambahkan substrat peroksidase (TMB) dan hentikan reaksi dengan H_2SO_4 setelah 10–20 menit.
8. **Analisis:** Absorbansi diukur pada panjang gelombang 450 nm (semakin rendah sinyal, semakin tinggi kadar MDA). Kadar MDA dihitung menggunakan kurva standar.



4.5.11. Alur Penelitian



Gambar 4. 2 Alur Penelitian

4.5.12. Waktu dan Tempat Penelitian

Seluruh tahapan penelitian *in vivo* ini, termasuk pemberian paparan sinar UVB dan perlakuan, pengambilan sampel, serta pengukuran biomarker IL-6 dan MDA, dilaksanakan mulai November 2025 di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Hewan Coba, Fakultas Kedokteran IBL, Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang dan Laboratorium CITO. Laboratorium ini telah memenuhi standar fasilitas untuk penelitian biomedis eksperimental dan molekuler.

4.5.13. Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis dan dilakukan uji deskriptif. Kemudian dilakukan uji normalitas data dengan uji *Shapiro Wilk* dan uji varian data dengan uji *Levene*. Data IL-6 memiliki sebaran data yang tidak normal namun memiliki varian data yang homogen, sehingga analisis dilanjutkan dengan *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok. Data MDA memiliki sebaran data yang normal namun varian data tidak homogen, sehingga analisis dilanjutkan dengan *Welch ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tamhane* untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok. Pengolahan analisis data dilakukan dengan menggunakan SPSS *for Windows*.

BAB 5

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

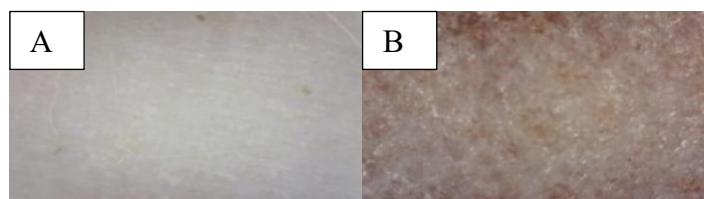
Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek pemberian serum ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap kadar *interleukin-6* (IL-6) dan *malondialdehyde* (MDA) pada kulit tikus Wistar yang terpapar sinar ultraviolet B (UVB). Studi ini menggunakan desain eksperimental selama 14 hari dengan melibatkan 30 ekor tikus Wistar Jantan. Sebelum perlakuan seluruh tikus diaklimatisasi di laboratorium selama tujuh hari guna menstabilkan kondisi fisiologis hewan uji. Setelah periode adaptasi, hewan coba dibagi secara acak ke dalam lima kelompok perlakuan. Kelompok K1 berperan sebagai kontrol normal tanpa paparan UVB dan tanpa perlakuan. Kelompok K2 sebagai kontrol negatif menerima paparan UVB dan diberikan basis serum. Kelompok K3 berfungsi sebagai kontrol positif dengan paparan UVB dan diberi gel niacinamide. Kelompok K4 dan K5 merupakan kelompok perlakuan yang terpapar sinar UVB dan diberikan serum ekstrak daun kelor secara topikal dengan konsentrasi 10% dan 15%.

Paparan sinar UVB diberikan setiap hari selama 15 menit dengan dosis 70 mJ/cm² pada jarak 40 cm dari permukaan kulit, dan dilakukan 20 menit sebelum aplikasi serum. Prosedur ini bertujuan untuk menciptakan kondisi *photoaging*, yang ditandai oleh peningkatan proses inflamasi dan stres oksidatif pada jaringan kulit, sehingga memengaruhi kadar mediator inflamasi dan produk

peroksidasi lipid. Validasi efek paparan UVB dilakukan dengan membandingkan kelompok K1 dan K2 untuk memastikan adanya perubahan pada kulit. Pada hari ke-15, seluruh tikus diterminasi dan jaringan kulit dari area yang terpapar UVB diambil untuk pemeriksaan lebih lanjut. Kadar IL-6 dan MDA dianalisis menggunakan metode ELISA. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik untuk mengetahui perbedaan kadar IL-6 dan MDA antar kelompok perlakuan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjelaskan potensi serum ekstrak daun kelor dalam menekan respons inflamasi dan stres oksidatif pada kulit, sehingga berpeluang sebagai agen protektif terhadap kerusakan kulit akibat *photoaging* yang diinduksi oleh paparan sinar UVB.

5.1.1 Validasi Model *Photoaging*

Model tikus *photoaging* dievaluasi melalui penilaian makroskopis dan mikroskopis untuk memastikan keberhasilan induksi kerusakan kulit akibat pajanan sinar UV-B. Proses validasi dilakukan dengan membandingkan kelompok kontrol sehat (K1) dengan kelompok kontrol negatif (K2). Pemeriksaan makroskopis dilakukan melalui observasi langsung terhadap jaringan kulit untuk menilai perubahan morfologi secara kasat mata, seperti perubahan warna, tekstur, ketebalan, dan elastisitas permukaan kulit disajikan pada Gambar 5.1.



Gambar 5.1 Gambaran makroskopis jaringan kulit tikus: (A) Kondisi kulit normal pada tikus; (B) Kondisi kulit dengan paparan sinar UVB

Gambar 5.1 menunjukkan hasil pengamatan mikroskopis jaringan kulit tikus menggunakan mikroskop digital. Pada Gambar 5.1(A), kulit tikus pada kelompok kontrol sehat tampak memiliki permukaan yang halus dengan struktur jaringan yang terorganisasi baik tanpa adanya perubahan morfologis yang berarti. Sementara itu, Gambar 5.1 (B) memperlihatkan kondisi kulit tikus yang mendapat paparan sinar UVB, yang ditandai oleh penebalan lapisan epidermis, permukaan kulit yang tidak rata, permukaan kulit yang kasar, serta perubahan karakteristik jaringan, sehingga menunjukkan adanya kerusakan kulit akibat paparan UVB.

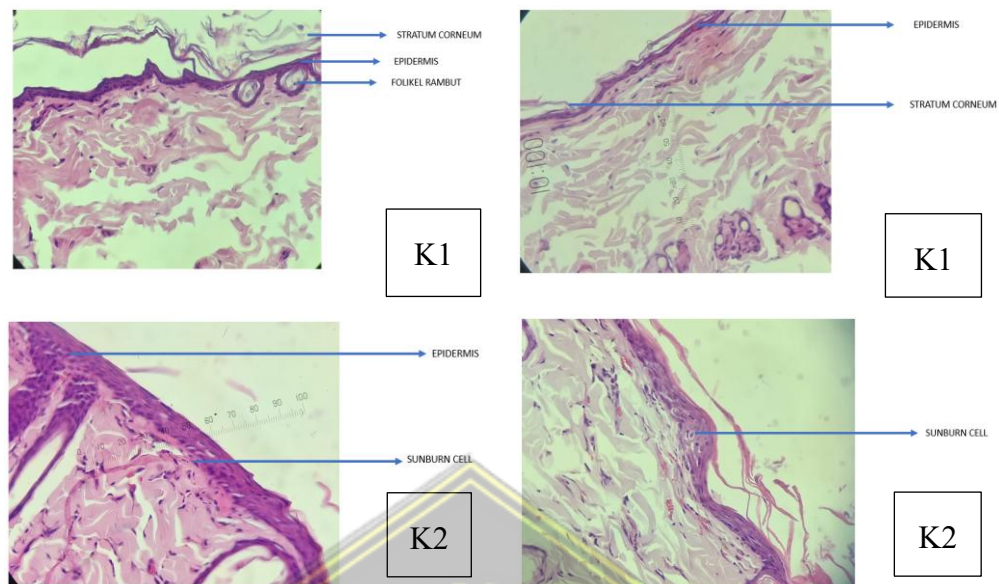
Hasil pengamatan kuantitatif disajikan dalam Tabel 5.1, yang memuat distribusi *sunburn cells* pada lima lapang pandang untuk setiap sampel, dengan tujuan untuk memberikan gambaran objektif mengenai tingkat kerusakan sel akibat paparan UVB.

Tabel 5.1 Jumlah *Sunburn Cell* pada kulit tikus dari 5 lapang pandang per sampel.

Kelompok	Sampel	Lapang Pandang				
		1	2	3	4	5
Kontrol Sehat (K1)	Sampel 1	0	0	0	0	0
	Sampel 2	0	0	0	0	0
	Sampel 3	0	0	0	0	0
Kontrol Negatif (K2)	Sampel 1	0	19	2	8	5
	Sampel 2	0	0	0	0	5
	Sampel 3	0	0	0	2	1

Berdasarkan data pada Tabel 5.1, tidak ditemukan *sunburn cells* pada seluruh sampel maupun lapang pandang pengamatan kelompok sehat (K1), yang menunjukkan bahwa jaringan kulit berada dalam kondisi normal tanpa tanda kerusakan akibat sinar UVB. Sebaliknya, pada kelompok kontrol negatif (K2) teridentifikasi *sunburn cells* dengan jumlah yang bervariasi antar sampel dan lapang pandang, dengan jumlah tertinggi mencapai 19 sel pada sampel 1 lapang pandang 2. Temuan ini mengindikasikan bahwa paparan sinar UVB efektif menyebabkan kerusakan jaringan kulit, sehingga pembentukan model *photoaging* pada tikus dapat dinyatakan berhasil.

Validasi histologis hasil pengamatan kuantitatif tersebut diperkuat melalui gambaran mikroskopis jaringan kulit tikus. Pemeriksaan mikroskopis dilakukan menggunakan mikroskop digital untuk menilai morfologi jaringan kulit, sehingga perubahan histopatologis yang ditimbulkan oleh paparan UV-B dapat diamati secara visual. Validasi mikroskopis lebih lanjut dilakukan melalui pewarnaan *Hematoxylin–Eosin* (HE) pada preparat jaringan kulit untuk mengevaluasi jumlah *sunburn cells* pada area dermis. Keberhasilan induksi *photoaging* ditetapkan apabila kelompok K2 menunjukkan perubahan histologis yang jelas dibandingkan dengan kelompok K1 yang disajikan pada Gambar 5.2.



Gambar 5.1 Gambaran mikroskopis pewarnaan *Hematoxylin–Eosin* (HE): (K1) Kondisi kulit normal pada tikus; (K2) Kondisi kulit dengan paparan sinar UVB

Pewarnaan *Hematoxylin–Eosin* (HE) memungkinkan identifikasi struktur histologis kulit secara jelas, termasuk lapisan epidermis, stratum korneum, serta keberadaan sunburn cells yang ditandai oleh inti sel yang mengalami kondensasi (piknosis) dan sitoplasma eosinofilik sebagai indikator apoptosis akibat paparan sinar UV-B. Pada kelompok kontrol sehat (K1), struktur kulit tampak normal dengan susunan epidermis yang utuh dan terorganisasi baik. Tidak ditemukan sunburn cells pada lapisan epidermis maupun dermis, baik pada area sekitar folikel rambut maupun jaringan sekitarnya. Temuan ini konsisten dengan hasil kuantitatif pada Tabel 5.1 yang menunjukkan nihilnya sunburn cells pada seluruh lapang pandang, sehingga mencerminkan kondisi kulit normal tanpa kerusakan akibat radiasi UV-B.

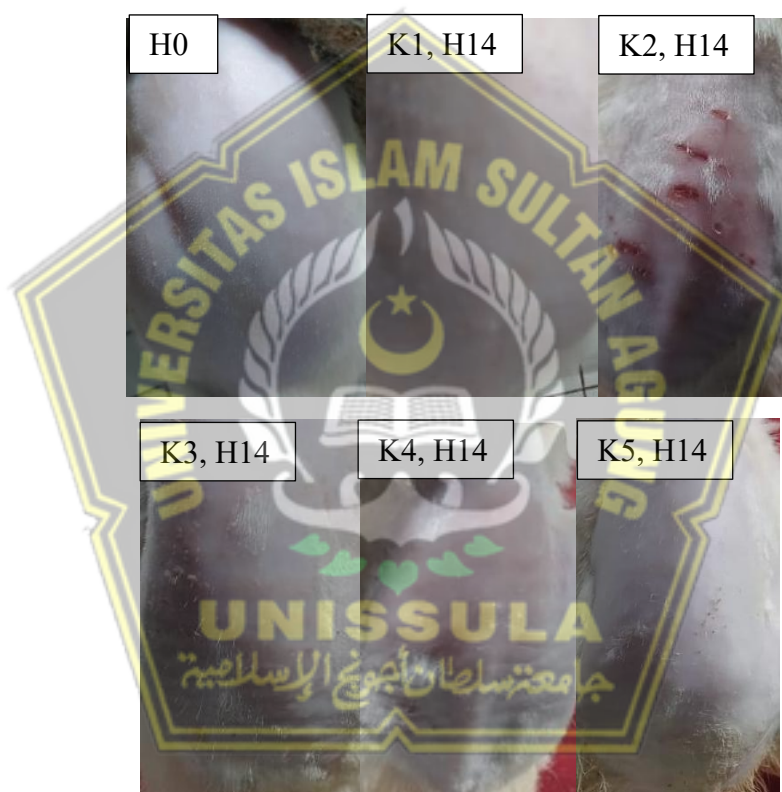
Sebaliknya, pada kelompok kontrol negatif (K2) terlihat perubahan histopatologis yang jelas. Gambar mikroskopis menunjukkan adanya sunburn cells pada lapisan epidermis, yang tampak sebagai sel dengan inti kecil, padat, dan berwarna gelap, disertai peningkatan eosinofilia sitoplasma. Selain itu, pada beberapa area tampak penebalan epidermis dan perubahan morfologi jaringan yang mengindikasikan respons stres dan kerusakan kulit akibat paparan UV-B. Temuan ini sejalan dengan peningkatan jumlah sunburn cells yang tercatat secara kuantitatif pada Tabel 5.1.

Secara keseluruhan, kesesuaian antara data kuantitatif dan gambaran histologis pada Gambar 5.2 menegaskan bahwa pewarnaan HE berhasil memvalidasi keberadaan sunburn cells sebagai penanda kerusakan kulit akibat photoaging. Dengan demikian, perbedaan yang jelas antara kelompok K1 dan K2 mengonfirmasi bahwa model induksi photoaging pada penelitian ini telah berhasil dan dapat digunakan sebagai dasar untuk analisis lanjutan.

5.1.2 Gambaran Makroskopis Model *Photoaging* Antar Kelompok

Pengamatan makroskopis dilakukan untuk mengevaluasi kondisi kulit punggung tikus Wistar jantan pada hari awal penelitian (H0) sebelum perlakuan serta setelah 14 hari paparan sinar UVB dan aplikasi serum. Observasi dilakukan pada seluruh kelompok untuk mengidentifikasi perubahan morfologi kulit akibat paparan UVB, memastikan keberhasilan pembentukan model *photoaging*, serta menilai efek protektif serum ekstrak daun kelor terhadap kerusakan kulit.

Aspek yang diamati meliputi munculnya eritema, perubahan tekstur kulit menjadi kasar, terbentuknya kerutan halus (*fine wrinkles*), deskuamasi atau pengelupasan kulit, serta perubahan warna berupa hiperpigmentasi atau tampilan kulit yang kusam. Pada H0, seluruh kelompok memperlihatkan kondisi kulit yang relatif seragam, halus, dan tidak menunjukkan tanda-tanda kerusakan maupun stres oksidatif.



Gambar 5.2 Gambaran Makroskopis Hari ke-0 (H0) dan Gambaran Makroskopis Kulit Terpapar Sinar UVB pada Hari ke-14 (H14) Antar Kelompok Perlakuan (K1: Kelompok sehat, K2: Kontrol negatif, K3: Kontrol positif, K4: Serum Ekstrak Kelor 10%, K5: Serum Ekstrak Kelor 15%)

Gambar 5.2 menunjukkan perbandingan kondisi kulit tikus sebelum perlakuan (H0) dan setelah 14 hari paparan sinar UVB disertai pemberian perlakuan (H14). Pada akhir penelitian, kelompok kontrol sehat (K1) tetap

mempertahankan karakteristik kulit yang normal, dengan permukaan yang halus dan warna yang merata, sehingga tidak tampak adanya perubahan morfologi yang berarti dibandingkan kondisi awal.

Kelompok kontrol negatif (K2) yang hanya mendapatkan paparan UVB mengalami perubahan kulit yang jelas. Kulit punggung tikus pada kelompok ini tampak kerutan yang terlihat jelas dan area punggung yang kemerahan serta terdapat beberapa luka, yang mencerminkan terjadinya kerusakan jaringan akibat stres oksidatif serta respons inflamasi yang dipicu oleh radiasi UVB tanpa adanya perlindungan.

Pada kelompok kontrol positif yang mendapat gel niacinamide (K3), kondisi kulit relatif lebih baik dibandingkan K2. Permukaan kulit terlihat lebih rata, kerutan halus tidak dominan, dan tidak ditemukan kemerahan yang nyata. Hal ini menunjukkan bahwa gel niacinamide mampu memberikan perlindungan tertentu terhadap efek merusak sinar UVB.

Pada kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 10% (K4), tidak terdapat kemerahan pada area punggung, meskipun masih terlihat sedikit kerutan halus, yang menunjukkan bahwa efek perlindungan yang dihasilkan belum maksimal. Sebaliknya, kelompok yang menerima serum ekstrak daun kelor 15% (K5) menunjukkan kondisi kulit yang lebih baik, dengan permukaan yang lebih halus, hampir tidak terlihat kerutan halus, serta tanpa kemerahan. Bahkan, kulit punggung pada kelompok ini tampak lebih baik dibandingkan kelompok kontrol positif. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa serum ekstrak daun kelor pada konsentrasi 15% memberikan efek

proteksi yang lebih optimal terhadap kerusakan kulit akibat paparan sinar UVB.

5.1.3 Hasil Pemeriksaan Kadar IL-6 pada Jaringan Kulit

Kadar IL-6 pada jaringan kulit tikus Wistar pada hari ke-15 setelah perlakuan diperiksa untuk mengevaluasi respons inflamasi akibat paparan sinar UVB serta pengaruh pemberian serum ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*). Hasil analisis kadar IL-6 pada jaringan kulit tikus Wistar disajikan pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Deskriptif Rata-rata Kadar IL-6 dan Uji *Kruskal-Wallis*

Kelompok	Tikus Sehat (K1)	Kontrol Negatif (K2)	Kontrol Positif (K3)	Kelor 10% (K4)	Kelor 15% (K5)	P value
Kadar IL-6 (ng/L) (n=6)						
<i>Mean</i>	9,25	11,62	8,54	9,84	11,59	
<i>SD</i>	1,02	2,19	1,49	1,16	1,81	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,687	0,007	0,967	0,084	0,028	
<i>Levene Test</i>						0,739
<i>Kruskal-Wallis</i>						0,013

Keterangan:

Shapiro-Wilk = Distribusi tidak normal ($p < 0,05$)

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

Kruskal-Wallis = Terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ($p < 0,05$)

Berdasarkan Tabel 5.1, kadar IL-6 tertinggi ditemukan pada kelompok kontrol negatif (K2) dengan nilai rata-rata $11,62 \pm 2,19$ ng/L, diikuti oleh kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 15% (K5) sebesar $11,59 \pm 1,81$ ng/L. Kadar IL-6 berikutnya terdapat pada kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 10% (K4) sebesar $9,84 \pm 1,16$ ng/L, diikuti oleh kelompok tikus sehat (K1) sebesar $9,25 \pm 1,02$ ng/L. Kadar IL-6 terendah terdapat pada kelompok kontrol positif (K3) dengan nilai rata-rata $8,54 \pm 1,49$ ng/L. Hasil

analisis menunjukkan bahwa terdapat pengaruh paparan UVB dan pemberian perlakuan terhadap kadar IL-6 pada jaringan kulit tikus Wistar.

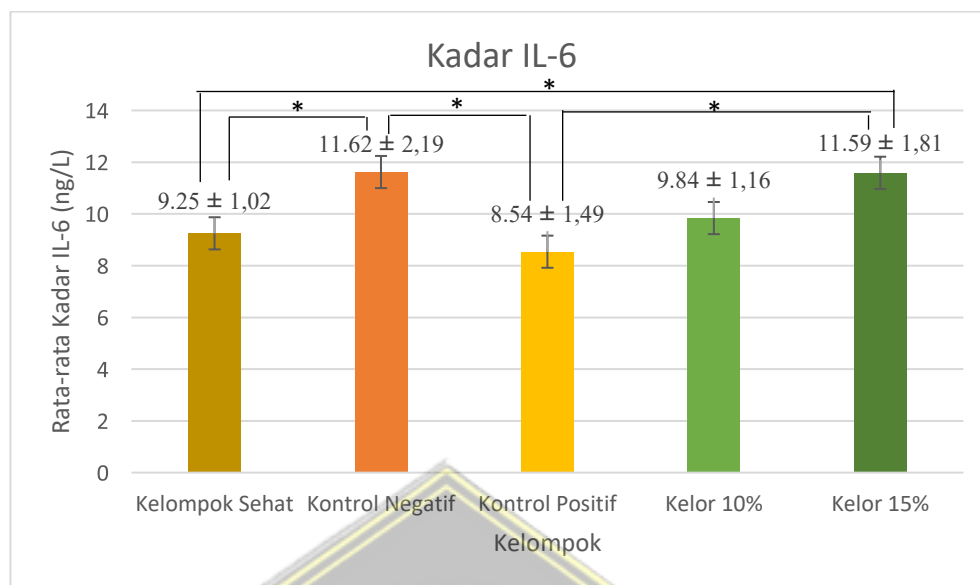
Hasil uji normalitas *Shapiro–Wilk* menunjukkan bahwa data kadar IL-6 pada beberapa kelompok tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$). Nilai signifikansi *Shapiro–Wilk* pada kelompok K2 sebesar 0,007 dan pada kelompok K5 sebesar 0,028, yang menunjukkan bahwa distribusi data pada kedua kelompok tersebut menyimpang dari distribusi normal. Namun, hasil uji homogenitas varians menggunakan *Levene test* menunjukkan bahwa data bersifat homogen dengan nilai p sebesar 0,739 ($p > 0,05$). Oleh karena itu, analisis perbedaan antar kelompok dilakukan menggunakan uji nonparametrik *Kruskal–Wallis*.

Hasil uji *Kruskal–Wallis* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar IL-6 antar kelompok perlakuan dengan nilai $p = 0,013$ ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa paparan sinar UVB dan pemberian serum ekstrak daun kelor dengan konsentrasi berbeda memberikan pengaruh terhadap kadar IL-6 pada kulit tikus Wistar. Selanjutnya, untuk mengetahui perbedaan kadar IL-6 secara lebih spesifik antar pasangan kelompok, dilakukan analisis lanjutan menggunakan uji *post hoc Mann–Whitney*. Hasil analisis *Post Hoc Mann Whitney* ditampilkan pada Tabel 5.3

Tabel 5.3 Hasil Uji *Post Hoc Mann Whitney* setelah Perlakuan terhadap rata-rata kadar IL-6

Kelompok	K1	K2	K3	K4	K5
K1	-	0,004*	0,485	0,589	0,041*
K2		-	0,015*	0,310	0,485
K3			-	0,132	0,026*
K4				-	0,065
K5					-

Keterangan: *Bermakna $p < 0,05$



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

Gambar 5.3 Perbandingan Kadar IL-6 antar Kelompok Perlakuan

Tabel 5.3 dan Gambar 5.3 menunjukkan perbedaan kadar IL-6 yang signifikan antara beberapa pasangan kelompok. Perbedaan bermakna ditemukan antara kelompok kontrol sehat (K1) dan kontrol negatif (K2) dengan nilai $p=0,004$, serta antara kelompok kontrol sehat (K1) dan kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 15% (K5) dengan nilai $p=0,041$.

Perbedaan signifikan juga ditemukan antara kelompok kontrol negatif (K2) dan kontrol positif (K3) dengan nilai $p=0,015$, serta antara kelompok kontrol positif (K3) dan kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 20% (K5) dengan nilai $p=0,026$ ($p < 0,05$).

Sebaliknya, tidak ditemukan perbedaan yang signifikan antara kelompok sehat (K1) dengan kelompok kontrol positif (K3) dan kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 10% (K4), serta antara kelompok kontrol negatif (K2) dengan kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 10% (K4) dan 20%

(K5). Selain itu, perbedaan kadar IL-6 antara kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 10% (K4) dan 20% (K5) juga tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p>0,05$).

5.1.4 Hasil Pemeriksaan Kadar MDA pada Jaringan Kulit

Pemeriksaan kadar MDA pada jaringan kulit tikus Wistar dilakukan pada hari ke-15 setelah perlakuan untuk menggambarkan tingkat stres oksidatif yang terjadi akibat paparan sinar UVB serta pengaruh pemberian serum ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*). Hasil uji deskriptif dan analisis *Welch ANOVA* kadar MDA pada jaringan kulit mencit disajikan pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4 Deskriptif Rata-rata Kadar MDA dan Uji *Welch ANOVA*

Kelompok	Tikus Sehat (K1)	Kontrol Negatif (K2)	Kontrol Positif (K3)	Kelor 10% (K4)	Kelor 15% (K5)	<i>P</i> value
Kadar MDA (nmol/mL) (n=6)						
<i>Mean</i>	2,93	2,86	2,47	2,48	1,89	
<i>SD</i>	0,30	0,26	1,05	0,30	0,39	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,482	0,942	0,472	0,961	0,611	
<i>Levene Test</i>						0,017
<i>Welch ANOVA</i>						0,003

Keterangan:

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

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

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

Berdasarkan Tabel 5.4, kadar MDA tertinggi ditemukan pada kelompok tikus sehat (K1) dengan nilai rata-rata $2,93 \pm 0,30$ nmol/mL, diikuti oleh kelompok kontrol negatif (K2) sebesar $2,86 \pm 0,26$ nmol/mL. Kadar MDA berikutnya terdapat pada kelompok kontrol positif (K3) sebesar $2,47 \pm 1,05$ nmol/mL, diikuti oleh kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 10% (K4) sebesar $2,48 \pm 0,30$ nmol/mL. Kadar MDA terendah terdapat pada

kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 15% (K5) dengan nilai rata-rata $1,89 \pm 0,39$ nmol/mL. Hasil analisis menunjukkan bahwa pemberian serum ekstrak daun kelor berpengaruh terhadap penurunan kadar MDA pada jaringan kulit tikus yang terpapar UVB.

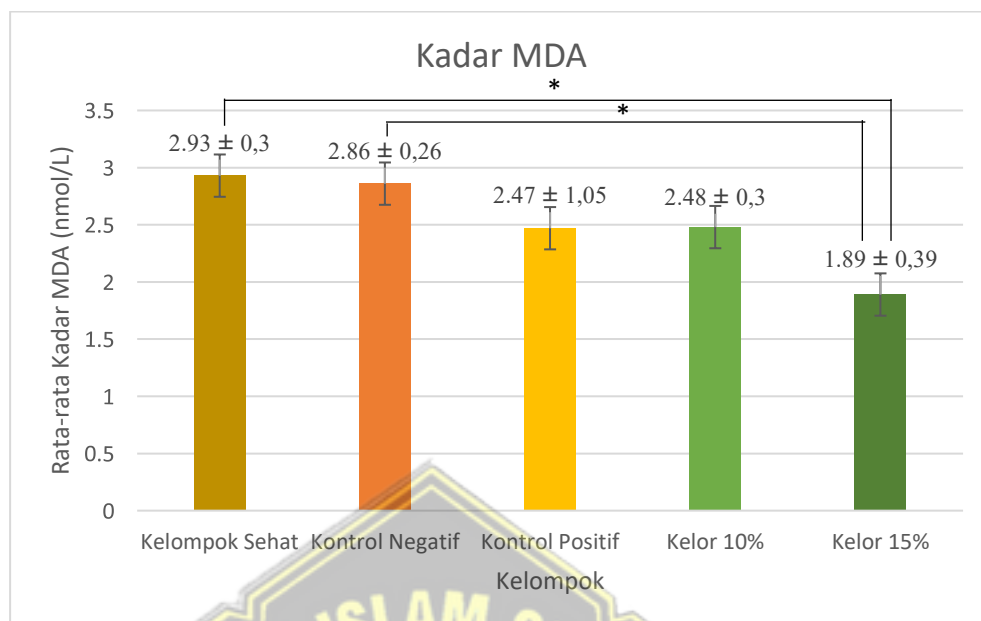
Hasil uji normalitas *Shapiro–Wilk* menunjukkan bahwa data kadar MDA pada seluruh kelompok terdistribusi normal ($p>0,05$). Namun, hasil uji homogenitas varians menggunakan *Levene test* menunjukkan bahwa data tidak homogen dengan nilai $p=0,017$ ($p<0,05$), sehingga analisis perbedaan antar kelompok dilakukan menggunakan uji *Welch ANOVA*.

Hasil uji *Welch ANOVA* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar MDA seluruh kelompok perlakuan dengan nilai $p=0,003$ ($p<0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa paparan UVB dan pemberian serum ekstrak daun kelor dengan konsentrasi berbeda memberikan pengaruh terhadap kadar MDA pada jaringan kulit tikus Wistar.

Tabel 5.5 Hasil Uji *Post Hoc Tamhane* setelah Perlakuan terhadap rata-rata kadar MDA

Kelompok	K1	K2	K3	K4	K5
K1	-	1,000	0,985	0,254	0,006*
K2		-	0,995	0,360	0,008*
K3			-	1,000	0,945
K4				-	0,158
K5					-

Keterangan: *Bermakna $p<0,05$



Gambar 5.4 Perbandingan Kadar MDA antar Kelompok Perlakuan

Berdasarkan hasil uji *post hoc Tamhane* pada Tabel 5.5 dan Gambar 5.4, terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar MDA antara beberapa pasangan kelompok. Kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 15% (K5) menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok tikus sehat (K1) dengan nilai $p=0,006$ serta dengan kelompok kontrol negatif (K2) dengan nilai $p=0,008$ ($p<0,05$).

Sebaliknya, tidak ditemukan perbedaan yang signifikan pada pasangan kelompok lainnya, termasuk antara kelompok kontrol positif (K3) dengan kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 10% (K4) dan 15% (K5), serta antara kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 10% (K4) dengan kelompok lainnya ($p>0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian serum ekstrak daun kelor 15% memiliki potensi lebih besar dalam menurunkan kadar MDA dibandingkan kelompok lainnya.

5.2 Pembahasan

Paparan sinar UVB diketahui sebagai salah satu faktor utama yang memicu proses *photoaging* melalui peningkatan stres oksidatif dan aktivasi respons inflamasi pada kulit.² Salah satu indikator inflamasi yang penting dalam proses ini adalah IL-6, yaitu sitokin proinflamasi yang diproduksi oleh keratinosit, fibroblas, dan sel imun sebagai respons terhadap kerusakan jaringan.⁴⁰ Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar IL-6 pada jaringan kulit tikus Wistar mengalami variasi antar kelompok perlakuan, yang mencerminkan perbedaan tingkat inflamasi akibat paparan UVB dan pengaruh pemberian serum ekstrak daun kelor.

Pada kelompok kontrol sehat (K1), kadar IL-6 sebesar $9,25 \pm 1,02$ ng/L mencerminkan kondisi homeostasis jaringan kulit tanpa paparan UVB. Pada kondisi normal, produksi IL-6 berada pada kadar basal yang berperan dalam regulasi fisiologis jaringan, seperti proses regenerasi sel dan respons imun dasar.⁴¹ Rendahnya kadar IL-6 pada kelompok ini menunjukkan bahwa tidak terjadi aktivasi jalur inflamasi yang signifikan, sehingga dapat dijadikan sebagai pembandingan terhadap kelompok yang terpapar UVB.

Pada kelompok kontrol negatif (K2), kadar IL-6 meningkat menjadi $11,62 \pm 2,19$ ng/L dan merupakan nilai tertinggi di antara seluruh kelompok. Secara statistik, kadar IL-6 pada kelompok ini berbeda bermakna dibandingkan kelompok kontrol sehat ($p=0,004$). Peningkatan kadar IL-6 pada K2 menunjukkan bahwa paparan UVB mampu menginduksi respons inflamasi pada kulit.^{5,42} Secara mekanistik, radiasi UVB meningkatkan pembentukan

reactive oxygen species (ROS), yang menyebabkan kerusakan DNA, lipid, dan protein sel. ROS selanjutnya mengaktivasi faktor transkripsi proinflamasi, terutama *nuclear factor kappa B* (NF- κ B) dan *activator protein-1* (AP-1), yang berperan dalam meningkatkan ekspresi sitokin proinflamasi, termasuk IL-6. Temuan ini sejalan dengan teori bahwa paparan UVB berulang dapat memicu respons inflamasi persisten yang berperan penting dalam mekanisme *photoaging* melalui aktivasi jalur stres oksidatif dan sitokin proinflamasi, termasuk IL-6.^{37,42,43}

Pada kelompok kontrol positif yang diberi niacinamide gel (K3), kadar IL-6 menurun menjadi $8,54 \pm 1,49$ ng/L dan merupakan nilai terendah di antara seluruh kelompok. Secara statistik, kadar IL-6 pada K3 berbeda bermakna dibandingkan K2 ($p=0,015$) dan K5 ($p=0,026$). Penurunan kadar IL-6 pada kelompok ini menunjukkan bahwa perlakuan niacinamide mampu menekan respons inflamasi akibat paparan UVB. Niacinamide diketahui memiliki efek antiinflamasi melalui penghambatan aktivasi NF- κ B dan MAPK, yang berperan dalam regulasi ekspresi sitokin proinflamasi, termasuk IL-6. Selain itu, niacinamide juga berperan sebagai agen fotoprotektif dan antioksidan yang mampu mengurangi stres oksidatif serta memperbaiki fungsi *barrier* kulit.^{44,45} Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa niacinamide efektif menurunkan ekspresi mediator inflamasi pada sel kulit yang terpapar radiasi ultraviolet.⁴⁶ Oleh karena itu, rendahnya kadar IL-6 pada K3 menunjukkan bahwa jalur inflamasi berhasil ditekan, sehingga kelompok ini dapat dijadikan standar pembanding efektivitas serum ekstrak daun kelor.

Pada kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 10% (K4), kadar IL-6 sebesar $9,84 \pm 1,16$ ng/L, yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol negatif, meskipun tidak berbeda bermakna secara statistik. Secara biologis, penurunan kadar IL-6 pada kelompok ini menunjukkan bahwa serum ekstrak daun kelor pada konsentrasi 10% mulai memberikan efek antiinflamasi. Daun kelor diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti flavonoid, fenol, asam askorbat, dan quercetin, yang memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi. Senyawa-senyawa tersebut mampu menetralkan ROS dan menghambat aktivasi NF- κ B, sehingga menurunkan ekspresi IL-6.^{6,25} Namun, efek yang belum signifikan menunjukkan bahwa konsentrasi 10% belum cukup kuat untuk menekan jalur inflamasi secara optimal.

Pada kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 15% (K5), kadar IL-6 sebesar $11,59 \pm 1,81$ ng/L, yang mendekati nilai pada kelompok kontrol negatif dan berbeda bermakna dibandingkan kelompok kontrol sehat ($p=0,041$). Temuan ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak daun kelor tidak diikuti dengan penurunan kadar IL-6. Secara teori, respons biologis terhadap senyawa bioaktif tidak selalu bersifat linear terhadap dosis (*non-linear dose-response*).^{47,48} Pada konsentrasi yang lebih tinggi, ekstrak tanaman dapat memicu efek pro-oksidan atau iritasi ringan pada jaringan kulit, yang justru dapat mengaktifasi jalur inflamasi. Selain itu, interaksi kompleks antar senyawa bioaktif dalam ekstrak daun kelor juga dapat memengaruhi keseimbangan jalur antioksidan dan proinflamasi, sehingga efek antiinflamasi yang diharapkan tidak tercapai secara optimal.⁴⁹

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa paparan sinar UVB berperan dalam meningkatkan kadar IL-6 sebagai mediator utama respons inflamasi pada jaringan kulit tikus Wistar.^{2,40} Peningkatan IL-6 mencerminkan aktivasi jalur inflamasi yang dipicu oleh kerusakan sel akibat radiasi UVB, sementara pemberian serum ekstrak daun kelor mampu memodulasi respons tersebut dengan efektivitas yang bergantung pada konsentrasi. Namun, pola dosis-respons yang tidak linear mengindikasikan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak tidak selalu diikuti oleh peningkatan efek antiinflamasi, yang kemungkinan berkaitan dengan kompleksitas interaksi senyawa bioaktif, bioavailabilitas topikal, serta potensi efek prooksidan atau iritatif pada konsentrasi tertentu.^{48,49} Temuan ini menegaskan bahwa proses *photoaging* merupakan hasil interaksi dinamis antara stres oksidatif dan inflamasi, sehingga efektivitas agen topikal berbasis bahan alam ditentukan oleh keseimbangan aktivitas antioksidan dan regulasi respons inflamasi pada tingkat seluler.

Keterkaitan antara inflamasi dan stres oksidatif tercermin lebih lanjut pada hasil pengukuran kadar MDA sebagai biomarker peroksidasi lipid. Paparan UVB diketahui meningkatkan produksi ROS pada sel kulit, yang selanjutnya menyebabkan kerusakan membran sel melalui peroksidasi lipid dan menghasilkan MDA sebagai produk akhir yang stabil.³⁷ Variasi kadar MDA antar kelompok perlakuan dalam penelitian ini menunjukkan bahwa serum ekstrak daun kelor tidak hanya memengaruhi jalur inflamasi, tetapi juga berperan dalam menekan akumulasi ROS dan kerusakan oksidatif pada jaringan

kulit. Dengan demikian, hasil penelitian ini menguatkan konsep bahwa mekanisme proteksi kulit terhadap paparan UVB melibatkan integrasi antara aktivitas antioksidan dan modulasi mediator inflamasi, sehingga ekstrak daun kelor berpotensi sebagai agen fotoprotektif melalui mekanisme ganda pada tingkat molekuler.³⁶

Pada kelompok kontrol sehat (K1), kadar MDA sebesar $2,93 \pm 0,30$ nmol/mL menunjukkan kondisi dasar stres oksidatif pada jaringan kulit tanpa paparan UVB. Nilai ini mencerminkan aktivitas metabolisme normal sel yang secara fisiologis tetap menghasilkan ROS dalam jumlah kecil. Meskipun demikian, kadar MDA pada kelompok ini relatif lebih tinggi dibandingkan beberapa kelompok perlakuan, yang dapat dipengaruhi oleh variasi biologis individu, faktor metabolik, atau mekanisme kompensasi antioksidan endogen pada tikus.⁵⁰

Pada kelompok kontrol negatif (K2), kadar MDA sebesar $2,86 \pm 0,26$ nmol/mL menunjukkan bahwa paparan UVB meningkatkan stres oksidatif pada jaringan kulit, meskipun peningkatan tersebut tidak jauh berbeda dibandingkan kelompok kontrol sehat. Secara teori, paparan UVB memicu pembentukan ROS yang menyerang lipid membran sel, sehingga meningkatkan produksi MDA.^{2,3} Temuan ini sejalan dengan konsep bahwa stres oksidatif merupakan salah satu mekanisme utama dalam proses *photoaging*.⁵¹

Pada kelompok kontrol positif (K3), kadar MDA menurun menjadi $2,47 \pm 1,05$ nmol/mL, yang menunjukkan bahwa perlakuan kontrol positif (niacinamide gel) mampu menekan proses peroksidasi lipid akibat paparan

UVB.^{46,52} Meskipun demikian, secara statistik, kadar MDA pada kelompok ini tidak berbeda bermakna dibandingkan kelompok lainnya, yang dapat disebabkan oleh variasi data yang cukup besar (SD tinggi).⁵³ Hal ini mengindikasikan bahwa efektivitas kontrol positif dalam menurunkan stres oksidatif belum konsisten pada seluruh subjek penelitian.

Pada kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 10% (K4), kadar MDA sebesar $2,48 \pm 0,30$ nmol/mL menunjukkan penurunan dibandingkan kelompok kontrol negatif. Temuan ini mengindikasikan bahwa serum ekstrak daun kelor pada konsentrasi 10% mulai memberikan efek antioksidan. Secara teori, daun kelor mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, fenol, vitamin C, dan quercetin yang mampu menangkap radikal bebas, menghambat peroksidasi lipid, dan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan endogen seperti *superoxide dismutase* (SOD), catalase, dan *glutathione peroxidase* (GPx).^{6,25} Namun, efek penurunan kadar MDA pada kelompok ini belum menunjukkan perbedaan bermakna secara statistik, sehingga konsentrasi 10% dinilai belum optimal dalam menekan stres oksidatif.

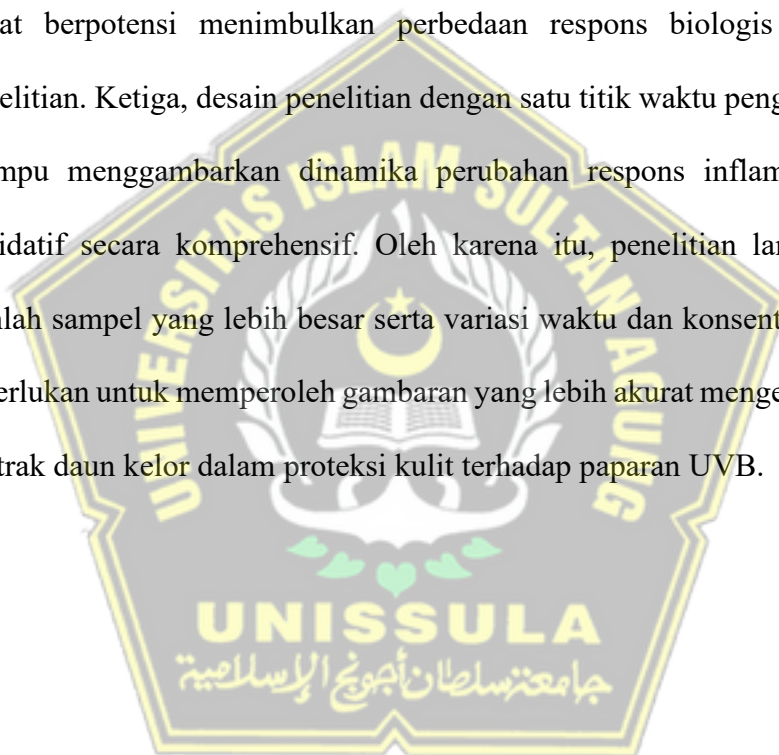
Pada kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 15% (K5), kadar MDA menurun secara nyata menjadi $1,89 \pm 0,39$ nmol/mL dan merupakan nilai terendah di antara seluruh kelompok. Secara statistik, kadar MDA pada kelompok K5 berbeda bermakna dibandingkan kelompok kontrol sehat (K1) dan kontrol negatif (K2). Temuan ini menunjukkan bahwa serum ekstrak daun kelor pada konsentrasi 15% memiliki efektivitas yang lebih kuat dalam menekan stres oksidatif akibat paparan UVB. Penurunan kadar MDA pada

kelompok ini mengindikasikan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak daun kelor mampu menetralkan ROS secara lebih efektif, sehingga menghambat proses peroksidasi lipid pada membran sel.⁵⁴

Kadar MDA pada kelompok K5 tidak berbeda bermakna dibandingkan kelompok kontrol positif (K3) dan kelompok perlakuan 10% (K4). Meskipun secara deskriptif konsentrasi 15% menunjukkan nilai MDA terendah, perbedaan tersebut belum mencapai signifikansi statistik. Hal ini mengindikasikan bahwa efektivitas serum ekstrak daun kelor 15% dalam menurunkan stres oksidatif relatif sebanding dengan kontrol positif dan konsentrasi 10%. Kondisi ini kemungkinan dipengaruhi oleh ukuran sampel yang terbatas, variasi biologis antar individu, serta kompleksitas interaksi senyawa bioaktif dalam ekstrak daun kelor.⁵⁵

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa paparan UVB meningkatkan stres oksidatif pada jaringan kulit, sedangkan pemberian serum ekstrak daun kelor mampu menurunkan kadar MDA sebagai indikator peroksidasi lipid. Efek penurunan kadar MDA tampak lebih nyata pada konsentrasi 15%, yang menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor memiliki potensi sebagai agen antioksidan topikal. Namun, perbedaan yang tidak selalu signifikan antar kelompok menunjukkan bahwa hubungan dosis-respons tidak sepenuhnya linear, sehingga efektivitas ekstrak daun kelor dipengaruhi oleh konsentrasi, variasi biologis, dan mekanisme antioksidan yang kompleks pada jaringan kulit.^{48,49}

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan dalam interpretasi hasil. Pertama, jumlah sampel yang relatif terbatas dapat memengaruhi kekuatan uji statistik dan meningkatkan variasi data, sehingga beberapa perbedaan antar kelompok tidak mencapai signifikansi statistik meskipun terdapat kecenderungan biologis yang jelas. Kedua, adanya variasi respons individu hewan uji terhadap paparan UVB dan perlakuan topikal yang dapat berpotensi menimbulkan perbedaan respons biologis antar subjek penelitian. Ketiga, desain penelitian dengan satu titik waktu pengukuran belum mampu menggambarkan dinamika perubahan respons inflamasi dan stres oksidatif secara komprehensif. Oleh karena itu, penelitian lanjutan dengan jumlah sampel yang lebih besar serta variasi waktu dan konsentrasi perlakuan diperlukan untuk memperoleh gambaran yang lebih akurat mengenai efektivitas ekstrak daun kelor dalam proteksi kulit terhadap paparan UVB.



BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Pemberian serum ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) memengaruhi kadar IL-6 dan MDA pada kulit tikus Wistar yang terpapar UVB, dengan penurunan MDA pada kelompok serum kelor 15% signifikan dibanding kontrol negatif, sedangkan perubahan IL-6 tidak berbeda secara signifikan.
2. Kadar IL-6 pada tikus Wistar yang terpapar sinar UVB tanpa perlakuan (K2) sebesar $11,62 \pm 2,19$ ng/L, sedangkan kadar IL-6 pada kelompok yang diberikan serum ekstrak *Moringa oleifera* konsentrasi 10% (K4) lebih rendah dibandingkan K2, yaitu $9,84 \pm 1,16$ ng/L, sementara pada konsentrasi 15% (K5) kadar IL-6 relatif sama dengan K2, yaitu $11,59 \pm 1,81$ ng/L.
3. Kadar MDA pada tikus Wistar yang terpapar sinar UVB tanpa perlakuan (K2) sebesar $2,86 \pm 0,26$ nmol/mL, sedangkan kadar MDA pada kelompok yang diberikan serum ekstrak *Moringa oleifera* konsentrasi 10% (K4) dan 15% (K5) lebih rendah dibanding K2, yaitu masing-masing sebesar $2,48 \pm 0,30$ nmol/mL dan $1,89 \pm 0,39$ nmol/mL.
4. Serum ekstrak *Moringa oleifera* konsentrasi 10% menunjukkan kadar IL-6 yang lebih rendah dibandingkan konsentrasi 15%, sedangkan serum konsentrasi 15% menunjukkan kadar MDA yang lebih rendah dibandingkan konsentrasi 10% pada kulit tikus Wistar yang terpapar sinar UVB, sehingga konsentrasi 10% lebih efektif dalam memengaruhi kadar

IL-6, sementara konsentrasi 15% lebih efektif dalam memengaruhi kadar MDA.

6.2 Saran

1. Penelitian selanjutnya disarankan menggunakan jumlah sampel yang lebih besar untuk meningkatkan kekuatan uji statistik dan mengurangi pengaruh variasi biologis antar subjek, sehingga hasil yang diperoleh dapat merepresentasikan efek biologis perlakuan secara lebih akurat.
2. Penelitian lanjutan disarankan untuk lebih memperhatikan dan mengontrol faktor lingkungan dan kondisi perlakuan secara lebih ketat, seperti intensitas dan durasi paparan UVB, kondisi pemeliharaan hewan uji, serta prosedur aplikasi sediaan topikal, guna meminimalkan variabilitas respons biologis yang dapat memengaruhi hasil penelitian.
3. Diperlukan pengamatan pada beberapa titik waktu yang berbeda serta variasi konsentrasi ekstrak daun kelor untuk menggambarkan pola respons inflamasi dan stres oksidatif secara lebih komprehensif, sekaligus mengevaluasi hubungan dosis–respons secara lebih jelas.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tong T, Geng R, Kang SG, Li X, Huang K. Revitalizing Photoaging Skin through Eugenol in UVB-Exposed Hairless Mice: Mechanistic Insights from Integrated Multi-Omics. *Antioxidants*. 2024 Feb 1;13(2).
2. Gromkowska-Kępcza KJ, Puścion-Jakubik A, Markiewicz-Żukowska R, Socha K. The impact of ultraviolet radiation on skin photoaging — review of in vitro studies. Vol. 20, *Journal of Cosmetic Dermatology*. John Wiley and Sons Inc; 2021. p. 3427–31.
3. Yang JW, Fan GB, Tan F, Kong HM, Liu Q, Zou Y, et al. The role and safety of UVA and UVB in UV-induced skin erythema. *Front Med (Lausanne)*. 2023;10.
4. WHO Team. Radiation: The known health effects of ultraviolet radiation [Internet]. WHO. 2024 [cited 2025 Sep 19]. Available from: <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/radiation-the-known-health-effects-of-ultraviolet-radiation>
5. Zaetun S, Budi L, Dewi K, Bagus I, Wiadnya R, Srigede L, et al. Profil Kadar MDA (Malondialdehid) Sebagai Penanda Kerusakan Seluler Akibat Radikal Bebas pada Tikus yang Diberikan Air Beroksigen. *Jurnal Analis Medika Bio Sains*. 2017;4(2):63–8.
6. Su X, Lu G, Ye L, Shi R, Zhu M, Yu X, et al. Moringa oleifera Lam.: a comprehensive review on active components, health benefits and application. Vol. 13, *RSC Advances*. Royal Society of Chemistry; 2023. p. 24353–84.
7. Rachmania R, Sumarawati T, Putra A, Hidayah N, Alif I, Husain SA, et al. Moringa oleifera leaf extract ameliorates collagen degradation via the inhibition of MMP-3 expression in UVB-induced rats. *Indones J Biotechnol*. 2024 Sep 1;29(3):121–8.
8. Mayangsari E, Mustika A, Nurdiana N, Samad NA. Comparison of UVA vs UVB Photoaging Rat Models in Short-term Exposure. *Medical Archives*. 2024;78(2):88–91.
9. Tang X, Yang T, Yu D, Xiong H, Zhang S. Current insights and future perspectives of ultraviolet radiation (UV) exposure: Friends and foes to the skin and beyond the skin. Vol. 185, *Environment International*. Elsevier Ltd; 2024.
10. Yong-Bing X, Gui-Lin C, Ming-Quan G. Antioxidant and anti-inflammatory activities of the crude extracts of moringa oleifera from kenya and their correlations with flavonoids. *Antioxidants*. 2019 Aug 1;8(8).
11. Dyah Setyowati A, Adelina D, Irawan A, Aprilia H, Adrian Rizki M. Analisa Zat Aktif Daun Kelor (Moringa Oleifera) Sebagai Studi Awal Obat Kanker. *Jurnal Cendekia Ilmiah*. 2024;3(6).
12. Wulan H, Pirnama Widagdo D, Aulia C. Potensi Ekstrak Etanol Daun Kelor sebagai Antiinflamasi, Penetapan Kadar Flavonoid Total. *Media Farmasi Indonesia*. 2021 Oct 30;16(2):1693–7.

13. Octabianus Robby. Pengaruh Variasi Konsentrasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) Terhadap Efek Antiinflamasi Sediaan Emulgel. *Jurnal Penelitian Kesehatan Suara Forikes*. 2022 Apr;13(2).
14. Pakan P, Indriarini D, Amat ALS, Wungouw HPL. Topical Antibacterial Therapy from *Moringa oleifera* Extract Against *Staphylococcus epidermidis*. *Tropical Journal of Natural Product Research*. 2023 Oct 29;7(10):4182–5.
15. Moneo-Sánchez M, de Pablo N, Arana-Pascual L, Beitia I, Benito-Cid S, Pérez-González R. Multifunctional, Novel Formulation for Repairing Photoaged and Sun-Damaged Skin: Insights from In Vitro, Ex Vivo, and In Vivo Studies. *Cosmetics*. 2024 Dec 1;11(6).
16. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Il-6 in inflammation, Immunity, And disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014 Oct 1;6(10).
17. Petit-Frère C, Clingen PH, Grewe M, Krutmann J, Roza L, Arlett CF, et al. Induction of interleukin-6 production by ultraviolet radiation in normal human epidermal keratinocytes and in a human keratinocyte cell line is mediated by DNA damage. *Journal of Investigative Dermatology*. 1998;111(3):354–9.
18. S de Vos, M Brach, A Budnik, M Grewe, F Herrmann, J Krutmann. Post-transcriptional regulation of interleukin-6 gene expression in human keratinocytes by ultraviolet B radiation. *J Invest Dermatol* [Internet]. 1994 Jul [cited 2025 Jul 3];92(6):103. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8027587/>
19. Cui B, Wang Y, Jin J, Yang Z, Guo R, Li X, et al. Resveratrol Treats UVB-Induced Photoaging by Anti-MMP Expression, through Anti-Inflammatory, Antioxidant, and Antiapoptotic Properties, and Treats Photoaging by Upregulating VEGF-B Expression. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022.
20. Ansary TM, Hossain MR, Kamiya K, Komine M, Ohtsuki M. Inflammatory molecules associated with ultraviolet radiation-mediated skin aging. Vol. 22, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI; 2021.
21. Pengawas Obat Dan Makanan Tahun B, Budaya Nusantara untuk Kesehatan Dunia KELOR *Moringa oleifera* Lam K, Budaya Nusantara untuk Kesehatan Dunia K. *Moringa oleifera* Lam.
22. Anzano A, Ammar M, Papaianni M, Grauso L, Sabbah M, Capparelli R, et al. *Moringa oleifera* Lam.: A Phytochemical and Pharmacological Overview. *Horticulturae*. 2021 Oct 16;7(10):409.
23. Sultana S. Nutritional and functional properties of *Moringa oleifera*. *Metabol Open*. 2020 Dec;8:100061.
24. Adekanmi AA, Adekanmi SA, Shafiu Adekanmi O. Qualitative and Quantitative Phytochemical Constituents of *Moringa* Leaf *International Journal of Engineering and Information Systems (IJEAIS)* Qualitative and Quantitative Phytochemical Constituents of *Moringa* Leaf [Internet]. Available from: www.ijeais.org

25. Pareek A, Pant M, Gupta MM, Kashania P, Ratan Y, Jain V, et al. *Moringa oleifera*: An Updated Comprehensive Review of Its Pharmacological Activities, Ethnomedicinal, Phytopharmaceutical Formulation, Clinical, Phytochemical, and Toxicological Aspects. Vol. 24, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI; 2023.
26. Yang M, Tao L, Kang XR, Li LF, Zhao CC, Wang ZL, et al. Recent developments in *Moringa oleifera* Lam. polysaccharides: A review of the relationship between extraction methods, structural characteristics and functional activities. *Food Chem X*. 2022 Jun 30;14.
27. Villegas-Vazquez EY, Gómez-Cansino R, Marcelino-Pérez G, Jiménez-López D, Quintas-Granados LI. Unveiling the Miracle Tree: Therapeutic Potential of *Moringa oleifera* in Chronic Disease Management and Beyond. Vol. 13, *Biomedicines*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2025.
28. Peñalver R, Martínez-zamora L, Lorenzo JM, Ros G, Nieto G. Nutritional and Antioxidant Properties of *Moringa oleifera* Leaves in Functional Foods. *Foods*. 2022 Apr 1;11(8).
29. Gede Ngurah Aldiantara Merta I, Sanna Yustiantara P. Review Artikel Potensi Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Sebagai Antibakteri Pada Sediaan Gel Untuk Mengatasi Jerawat. Vol. 1. 2022.
30. Ayuwardani N, Kusumaningrum AD. Toksisitas Akut Ekstrak Daun *Moringa oleifera*, Pemeriksaan Makroskopik dan Mikroskopik Organ Liver Tikus Putih. Vol. 1, Ayu Dwi Kusumaningrum. 2024.
31. Kaltchenko MV, Chien AL. Photoaging: Current Concepts on Molecular Mechanisms, Prevention, and Treatment(Review). *Am J Clin Dermatol*. 2025 May;26(3):321–44.
32. Bellavite P, Imbriano A. Skin Photoaging and the Biological Mechanism of the Protective Effects of Hesperidin and Derived Molecules. *Antioxidants* 2025 [Internet]. 2025;14:788. Available from: <https://doi.org/10.3390/antiox14070788>
33. Mawardi P, Yanuar F. Evaluating the difference of skin elasticity value on the use of 3% superoxide dismutase cream and 10% urea. *Journal of Pakistan Association of Dermatologists*. 2021;31(3):387–90.
34. Ahmad Z. Penuaan Kulit: Patofisiologi dan Manifestasi Klinis (Skin Aging: Pathophysiology and Clinical Manifestation). *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin*. 2018 Dec;30(3).
35. Yusharyahya SN. Mekanisme Penuaan Kulit sebagai Dasar Pencegahan dan Pengobatan Kulit Menua. *eJournal Kedokteran Indonesia*. 2021 Sep 1;9(2):150.
36. Tanveer MA, Rashid H, Tasduq SA. Molecular basis of skin photoaging and therapeutic interventions by plant-derived natural product ingredients: A comprehensive review. *Heliyon*. 2023 Mar;9(3):e13580.
37. Ekofitranto R, Zulaikhah ST, Wibowo JW. In vivo study on the effect of astaxanthin cream on preventing inflammation in skin tissue exposed to acute UVB by reducing MDA and IL-6 levels. *MEDISAINS: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Kesehatan*. 2025 Apr 30;23(1):66–70.

38. Rachmania R, Sumarawati T, Putra A, Hidayah N, Alif I, Husain SA, et al. Moringa oleifera leaf extract ameliorates collagen degradation via the inhibition of MMP-3 expression in UVB-induced rats. *Indones J Biotechnol.* 2024 Sep 1;29(3):121–8.
39. Kim J, Park S, Jeon BS, Jang WS, Lee SJ, Son Y, et al. Therapeutic effect of topical application of curcumin during treatment of radiation burns in a mini-pig model. *J Vet Sci.* 2016;17(4):435–44.
40. Johnson BZ, Stevenson AW, Prêle CM, Fear MW, Wood FM. The role of IL-6 in skin fibrosis and cutaneous wound healing. *Biomedicines.* 2020;8(5):1–18.
41. Dorronsoro A, Lang V, Ferrin I, Fernández-Rueda J, Zabaleta L, Pérez-Ruiz E, et al. Intracellular role of IL-6 in mesenchymal stromal cell immunosuppression and proliferation. *Sci Rep.* 2020 Dec 14;10(1):21853.
42. Zhao HC, Xiao T, Chen YJ. Ultraviolet Induced Skin Inflammation. *Int J Dermatol Venereol.* 2021 Dec;4(4):229–35.
43. Tang SC, Liao PY, Hung SJ, Ge JS, Chen SM, Lai JC, et al. Topical application of glycolic acid suppresses the UVB induced IL-6, IL-8, MCP-1 and COX-2 inflammation by modulating NF- κ B signaling pathway in keratinocytes and mice skin. *J Dermatol Sci.* 2017 Jun;86(3):238–48.
44. Boo YC. Mechanistic Basis and Clinical Evidence for the Applications of Nicotinamide (Niacinamide) to Control Skin Aging and Pigmentation. *Antioxidants.* 2021 Aug 21;10(8):1315.
45. Hu X, Chen M, Nawaz J, Duan X. Regulatory Mechanisms of Natural Active Ingredients and Compounds on Keratinocytes and Fibroblasts in Mitigating Skin Photoaging. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2024 Aug; Volume 17:1943–62.
46. Torres-Moral T, Tell-Martí G, Bague J, Rosés-Gibert P, Calbet-Llopart N, Mateu J, et al. Evaluation of the Biological Effect of a Nicotinamide-Containing Broad-Spectrum Sunscreen on Photodamaged Skin. *Dermatol Ther (Heidelb).* 2024 Dec 7;14(12):3321–36.
47. Fakhri KU, Sharma D, Fatma H, Yasin D, Alam M, Sami N, et al. The Dual Role of Dietary Phytochemicals in Oxidative Stress: Implications for Oncogenesis, Cancer Chemoprevention, and ncRNA Regulation. *Antioxidants.* 2025 May 22;14(6):620.
48. Wendt J, Knudsen B, Frame LA. Are Supra-Physiological Plant-Based Antioxidants Ready for the Clinic? A Scoping Review of Hormetic Influences Driving Positive Clinical Outcomes. *Global Advances in Integrative Medicine and Health.* 2024 Jan 6;13.
49. Eghbaliferiz S, Iranshahi M. Prooxidant Activity of Polyphenols, Flavonoids, Anthocyanins and Carotenoids: Updated Review of Mechanisms and Catalyzing Metals. *Phytotherapy Research.* 2016 Sep;30(9):1379–91.
50. Banjare J, Salunke M, Indapurkar K, Ghate U, Bhalerao S. Estimation of serum malondialdehyde as a marker of lipid peroxidation in medical

- students undergoing examination-induced psychological stress. *Journal of the Scientific Society*. 2017;44(3):137.
51. Chen X, Yang C, Jiang G. Research progress on skin photoaging and oxidative stress. *Advances in Dermatology and Allergology*. 2021;38(6):931–6.
 52. Camillo L, Gironi LC, Zavattaro E, Esposito E, Savoia P. Nicotinamide Attenuates UV-Induced Stress Damage in Human Primary Keratinocytes from Cancerization Fields. *Journal of Investigative Dermatology*. 2022 May;142(5):1466-1477.e1.
 53. Hejazi NS, Boileau P, van der Laan MJ, Hubbard AE. A generalization of moderated statistics to data adaptive semiparametric estimation in high-dimensional biology. *Stat Methods Med Res*. 2023 Mar 26;32(3):539–54.
 54. Ahmad Tarmizi AA, Nik Ramli NN, Abdul Mutalib M, Jasmi NA, Mokhtar MH, Adam SH. Antioxidant and Hepatoprotective Effects of *Moringa oleifera*-mediated Selenium Nanoparticles in Diabetic Rats. *F1000Res*. 2025 Jan 2;14:7.
 55. Netz Y, Lidor R, Ziv G. Small samples and increased variability – discussing the need for restricted types of randomization in exercise interventions in old age. *European Review of Aging and Physical Activity*. 2019 Dec 27;16(1):17.

