

**PENGARUH SERUM EKSTRAK DAUN KELOR
(*Moringa oleifera*) TERHADAP KADAR TNF- α DAN
VEGF**

(Studi Eksperimental pada Tikus Wistar yang dipapar Sinar UV-B)

Tesis

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



Magister Ilmu Biomedik

Christy Adhistiani

MBK.24.24.010503

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 TNF- α DAN VEGF (Studi Eksperimental pada Tikus Wistar yang dipapar Sinar UV-B)

Disusun oleh

Christy Adhistiani

MBK.24.24.010503

Akan dipertahankan di depan Tim Penguji Pada 24 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



Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes

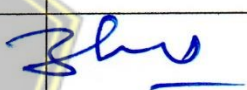
NIK. 210198046

LEMBAR PENGESAHAN DEWAN PENGUJI

Laporan Tesis dengan Judul “PENGARUH SERUM EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) TERHADAP KADAR TNF- α DAN VEGF (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, FINSDV, FAADV	Penguji II	
3	Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes	Penguji III	
4	Dr. dr. Prasetyadi Mawardi, Sp.DVE., Subsp.Ven, FINSDV, 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



RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Christy Adhistiani
Tempat, Tanggal Lahir : Sragen, 28 Mei 1985
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan
Status Pernikahan : Menikah
Alamat : Jl.Mliwis No.17 Kerten Laweyan Solo
No. HP/WA : 081215581404
Email : dr.cadhistiani@yahoo.com

B. Riwayat Pendidikan

TK : TK Aisyiyah 1 Gemolong
SD : SD N Banaran II
SMP : SMP Negeri 4 Surakarta
SMA : SMA Negeri 4 Surakarta (Jurusan IPA)
S1 : Fak. Kedokteran, Universitas Muhammadiyah
Yogyakarta
Profesi Dokter : Fak. Kedokteran, Universitas Muhammadiyah
Yogyakarta
Magister : Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Unissula

C. Riwayat Keluarga

Suami : Dimas Bayu Janardhana, ST, MBA
Anak : 1. Rannocetta Prabu Janardhana
2. Deandra Kinaryumi Janardhana

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 TNF- α dan VEGF (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.

Penyusunan tesis ini tidak lepas dari bantuan, dukungan, dan bimbingan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya 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 dukungan dalam penyusunan 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 masukan yang bermanfaat bagi penyempurnaan tesis ini.

4. Dr. dr. Prasetyadi Mawardi, Sp.DVE., Subsp.Ven, FINS DV, FAAD, selaku Dosen Pembimbing I, yang telah memberikan perhatian, saran, waktu, kritik membangun, serta motivasi yang luar biasa selama proses penelitian dan penulisan tesis ini.
5. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., SpKF, selaku Dosen Pembimbing II atas bimbingan, waktu, arahan, dan masukan yang sangat berharga bagi penyempurnaan tesis ini.
6. 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.
7. Para dosen dan staf pengajar Program Studi Magister Ilmu Biomedik, yang telah berbagi ilmu, pengalaman, dan dukungan selama masa studi.
8. Keluarga tercinta terutama papi Bayu, Prabu, Kinar dan keluarga besar yang selalu memberikan cinta, kesabaran, doa, dukungan, dan semangat yang selalu menyertai.
9. Rekan-rekan seperjuangan, atas kebersamaan, dukungan, dan motivasi selama proses penelitian dan penulisan tesis.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan penelitian ini. Semoga tesis ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu biomedik dan penelitian selanjutnya.

Semarang, 2 Februari 2026

(Christy Adhistiani)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN DEWAN PENGUJI	iii
PERNYATAAN	iv
RIWAYAT HIDUP	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR SINGKATAN	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1. Tujuan Umum.....	3
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4 Originalitas Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	8
1.5.1. Teoritis	8
1.5.2. Praktis	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 <i>Tumor Necrosis Factor-α</i> (TNF- α).....	9
2.1.1. Mekanisme Produksi TNF- α	10
2.2 VEGF.....	11
2.2.1. Mekanisme Produksi VEGF.....	12
2.2.2. VEGF dan <i>Photoaging</i>	12
2.3 Daun Kelor.....	13
2.3.1. Zat Aktif pada Kelor yang Berperan dalam Penyembuhan Kulit ..	16
2.4 <i>Photoaging</i>	18
2.5 UVB.....	19
2.6 Serum.....	21
BAB III.....	23
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS	23
3.1 Kerangka Teori.....	23
3.2 Kerangka Konsep	28
3.3 Hipotesis	28
BAB IV METODE PENELITIAN.....	29

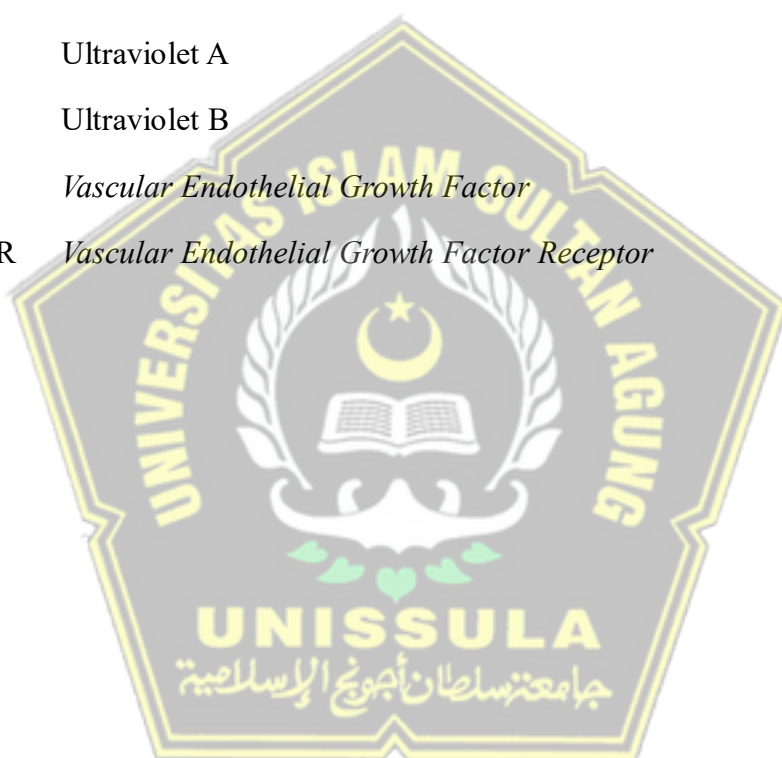
4.1	Rancangan Penelitian	29
4.2.1.	Populasi.....	30
4.2.2.	Besar Sampel.....	30
4.2.3.	Cara Pengambilan Sampel Penelitian	31
4.2.4.	Kriteria Inklusi.....	31
4.2.5.	Kriteria Eksklusi	31
4.2.6.	Kriteria <i>Drop Out</i>	31
4.3	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	32
4.3.1.	Variabel Bebas	32
4.3.2.	Variabel Terikat.....	32
4.3.3.	Variabel Prakondisi	32
4.3.4.	Definisi Operasional	33
4.4	Alat dan Bahan penelitian.....	34
4.4.1.	Alat.....	34
4.4.2.	Bahan	35
4.5	Prosedur Penelitian dan Alur Kerja	36
4.5.1.	Perolehan <i>Ethical Clearance</i>	36
4.5.2.	Cara Pembuatan Ekstrak Daun <i>Moringa oleifera</i>	36
4.5.3.	Pembuatan Sediaan Serum Ekstrak Daun <i>Moringa oleifera</i>	37
4.5.4.	Cara Persiapan Sebelum Perlakuan	37
4.5.5.	Pemberian Terapi Preventif	38
4.5.6.	Cara Induksi <i>Photoaging</i>	39
4.5.7.	Validasi Model <i>Photoaging</i>	39
4.5.8.	Terminasi dan Pengambilan Sampel.....	41
4.5.9.	Prosedur Pengujian ELISA untuk Mengukur Kadar TNF- α pada Jaringan Tikus	42
4.5.10.	Prosedur Pengujian ELISA untuk Mengukur Kadar VEGF pada Jaringan Tikus	43
4.6	Alur Penelitian	46
4.7	Tempat dan Waktu Penelitian	47
4.8	Analisis Data	47
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN		48
5.1	Hasil Penelitian	48
5.1.1	Validasi Model <i>Photoaging</i>	49
5.1.2	Gambaran Makroskopis Model <i>Photoaging</i> Antar Kelompok	53
5.1.3	Hasil Pemeriksaan Kadar TNF- α pada Jaringan Kulit.....	55
5.1.4	Hasil Pemeriksaan Kadar VEGF pada Jaringan Kulit	57
5.2	Pembahasan.....	59
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN		68
6.1	Kesimpulan	68
6.2	Saran	69
DAFTAR PUSTAKA.....		70
LAMPIRAN		77

DAFTAR SINGKATAN



AP-1	<i>Activator Protein 1</i>
bFGF	<i>Basic Fibroblast Growth Factor</i>
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i>
CAT	<i>Catalase</i>
CoA	<i>Coenzyme A</i>
CPD	<i>Cyclobutane Pyrimidine Dimers</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
HIF-1 α	<i>Hypoxia-Inducible Factor 1 alpha</i>
IL-1	<i>Interleukin-1</i>
IL-1 β	<i>Interleukin-1 beta</i>
IL-6	<i>Interleukin-6</i>
MAPK	<i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MDA	<i>Malondialdehyde</i>
MMP	<i>Matrix Metalloproteinase</i>
MSDS	<i>Material Safety Data Sheet</i>
NF- κ B	<i>Nuclear Factor kappa B</i>
NRP1/2	<i>Neuropilin 1 dan 2</i>
PBS	<i>Phosphate-Buffered Saline</i>
PI3K/Akt	<i>Phosphoinositide 3-Kinase / Protein Kinase B</i>
PlGF	<i>Placental Growth Factor</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
Smad	<i>Small Mothers Against Decapentaplegic</i>

SOD	<i>Superoxide Dismutase</i>
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TGF- β	<i>Transforming Growth Factor beta</i>
TMB	<i>3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine</i>
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor alpha</i>
TEA	<i>Triethanolamine</i>
UV	Ultraviolet
UVA	Ultraviolet A
UVB	Ultraviolet B
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VEGFR	<i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor</i>



DAFTAR TABEL

Tabel 1. 1 Originalitas Penelitian.....	4
Tabel 5.1 Jumlah <i>Sunburn Cell</i> pada kulit tikus	51
Tabel 5.2 Deskriptif Rata-rata Kadar TNF- α dan Uji <i>One Way-ANOVA</i>	56
Tabel 5.3 Deskriptif Rata-rata Kadar VEGF dan Uji <i>Welch-ANOVA</i>	59



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tumbuhan Kelor	15
Gambar 2.2 Paparan Sinar UV terhadap kulit	19
Gambar 3.1 Kerangka Teori	27
Gambar 3.2 Kerangka Konsep	28
Gambar 4.1 Rancangan Penelitian.....	29
Gambar 4.2 Alur Penelitian.....	46
Gambar 5.1 Gambaran makroskopis jaringan kulit tikus.....	50
Gambar 5.2 Gambaran mikroskopis pewarnaan <i>Hematoxylin–Eosin</i> (HE).....	53
Gambar 5.3 Gambaran Makroskopis Hari ke-0 dan Hari ke-14	54
Gambar 5.4 Perbandingan Kadar TNF- α antar Kelompok Perlakuan.....	57
Gambar 5.5 Perbandingan Kadar VEGF antar Kelompok Perlakuan.....	60



DAFTAR LAMPIRAN

1.	<i>Ethical Clearance</i>	77
2.	Surat Izin Penelitian	78
3.	Sertifikat Ekstrak <i>Moringa Oleifera</i>	79
4.	Alat dan Bahan yang Digunakan untuk Perlakuan Tikus	83
5.	Dokumentasi Penelitian.....	84
6.	Foto Makroskopis Hewan Coba.....	85
7.	Surat Hasil Pemeriksaan <i>Sunburn Cell</i>	91
8.	Surat Keterangan Hasil ELISA Jaringan TNF- α dan VEGF	92
9.	Hasil SPSS	95



ABSTRAK

Latar Belakang: Paparan sinar UVB dapat memicu stres oksidatif dan respons inflamasi pada kulit, yang ditandai oleh peningkatan TNF- α sebagai indikator respons inflamasi dan perubahan VEGF sebagai indikator angiogenesis pada kulit.. Daun kelor (*Moringa oleifera*) memiliki potensi sebagai agen antiinflamasi dan promotor regenerasi jaringan. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh serum ekstrak daun kelor terhadap kadar TNF- α dan VEGF pada kulit tikus Wistar yang terpapar sinar UVB.

Metode: Penelitian eksperimental *in vivo* dengan rancangan *post-test only control group design*. 30 ekor tikus Wistar jantan dibagi kedalam 5 kelompok: kelompok sehat, kontrol negatif, kontrol positif, serta kelompok yang diberi serum ekstrak daun kelor 10% dan 15%. Tikus dipapar UVB 70 mJ/cm² selama 15 menit setiap hari selama 14 hari dan diberi serum sesuai kelompok. Pada hari ke-15, kulit diambil untuk analisis kadar TNF- α dan VEGF menggunakan ELISA.

Hasil: Kadar TNF- α pada serum daun kelor 10% lebih rendah dibandingkan seluruh kelompok lainnya ($305,99 \pm 25,17$ ng/L). Kelompok serum daun kelor 10% dan 15% memiliki kadar VEGF masing-masing sebesar $879,78 \pm 78,00$ ng/L dan $876,38 \pm 30,94$ ng/L, sedikit lebih tinggi dibanding kontrol negative ($864,42 \pm 124,84$) dan kontrol positif ($834,98 \pm 182,06$). Tidak terdapat perbedaan bermakna terhadap kadar TNF- α dan VEGF antar kelompok ($p > 0,005$).

Kesimpulan: Serum ekstrak daun kelor 10% menunjukkan efektivitas yang lebih baik dalam menurunkan TNF- α dan meningkatkan VEGF pada kulit tikus Wistar yang dipapar UVB, meskipun perbedaan antar kelompok tidak signifikan secara statistik.

Kata Kunci: Serum daun kelor, TNF- α , VEGF, UVB, tikus Wistar

ABSTRACT

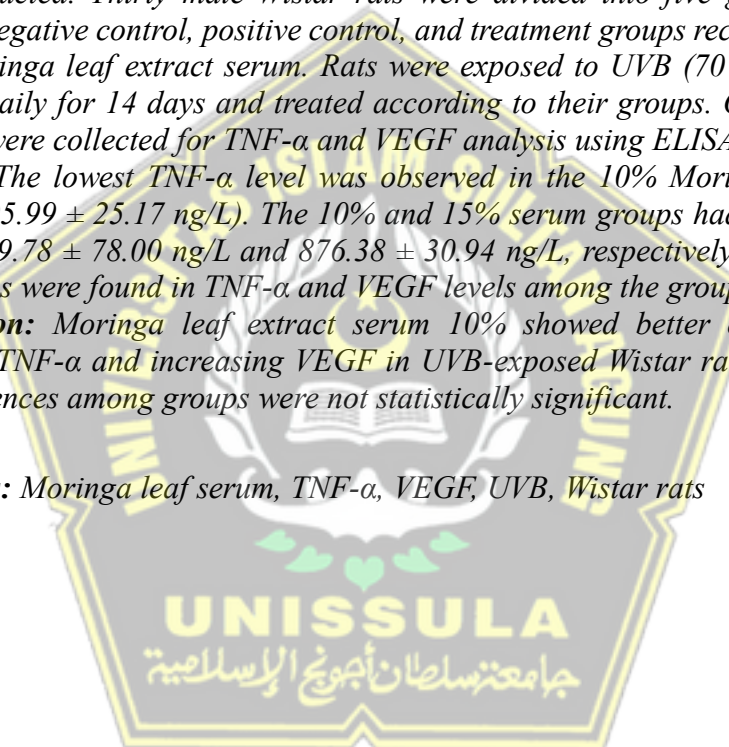
Background: UVB exposure can induce oxidative stress and inflammatory responses in the skin, indicated by increased TNF- α as an inflammation marker and changes in VEGF as an angiogenesis marker. *Moringa oleifera* leaves have potential as anti-inflammatory agents and tissue regeneration promoters. This study aimed to evaluate the effect of *Moringa* leaf extract serum on TNF- α and VEGF levels in the skin of UVB-exposed Wistar rats.

Methods: An in vivo experimental study with a post-test only control group design was conducted. Thirty male Wistar rats were divided into five groups: healthy control, negative control, positive control, and treatment groups receiving 10% and 15% *Moringa* leaf extract serum. Rats were exposed to UVB (70 mJ/cm²) for 15 minutes daily for 14 days and treated according to their groups. On day 15, skin samples were collected for TNF- α and VEGF analysis using ELISA.

Results: The lowest TNF- α level was observed in the 10% *Moringa* leaf serum group (305.99 ± 25.17 ng/L). The 10% and 15% serum groups had similar VEGF levels, 879.78 ± 78.00 ng/L and 876.38 ± 30.94 ng/L, respectively. No significant differences were found in TNF- α and VEGF levels among the groups ($p > 0.05$).

Conclusion: *Moringa* leaf extract serum 10% showed better effectiveness in reducing TNF- α and increasing VEGF in UVB-exposed Wistar rat skin, although the differences among groups were not statistically significant.

Keywords: *Moringa* leaf serum, TNF- α , VEGF, UVB, Wistar rats



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Paparan sinar *Ultraviolet B (UVB)* merupakan salah satu faktor lingkungan yang paling berpengaruh dalam mempercepat terjadinya *photoaging* yang memicu kerusakan struktural dan inflamasi kronis. Paparan UV-B memicu peningkatan *Reactive Oxygen Species (ROS)* yang merusak DNA, kolagen, dan elastin, serta mengaktivasi jalur molekuler seperti MAPK dan NF- κ B yang berperan dalam inflamasi.^{1,2} Gangguan ini menimbulkan perubahan klinis berupa kerutan, kekasaran kulit, hiperpigmentasi, dan penurunan elastisitas, sekaligus meningkatkan kerentanan kulit terhadap pembentukan tumor jinak maupun ganas.¹ Fenomena ini menunjukkan bahwa paparan UV-B tidak hanya mempengaruhi integritas kulit, tetapi juga memicu gangguan biologis yang berdampak luas terhadap kesehatan jaringan.

Prevalensi penuaan dini akibat UV dilaporkan sangat tinggi, sekitar 80-90% tanda penuaan kulit disebabkan oleh paparan sinar ultraviolet.³ Sebuah penelitian di Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya melaporkan bahwa pasien yang datang dengan keluhan penuaan kulit, faktor paparan sinar matahari adalah salah satu pemicu paling umum.⁴ Tingginya angka tersebut menekankan perlunya strategi preventif yang efektif, karena mekanisme inflamasi dan angiogenesis yang dipicu oleh UV-B berperan penting dalam percepatan kerusakan kulit. Peningkatan kadar TNF- α sebagai mediator inflamasi dan

peningkatan VEGF sebagai penanda angiogenesis merupakan gambaran khas respons biologis terhadap cedera akibat UV-B. Identifikasi intervensi topikal yang dapat menekan kedua parameter tersebut menjadi penting dalam upaya pencegahan kerusakan kulit jangka panjang. Dalam praktik dermatologi, niacinamide gel sering digunakan sebagai contoh agen topikal yang dapat menekan inflamasi dan mengurangi stres oksidatif, sehingga menunjukkan bahwa intervensi topikal memang dapat memodulasi parameter seperti TNF- α dan VEGF. Pemahaman mengenai perubahan TNF- α dan VEGF akibat paparan UV-B membuka peluang untuk mengeksplorasi agen topikal alami yang memiliki potensi antiinflamasi dan antiangiogenik, salah satunya adalah serum dengan kandungan ekstrak daun kelor.

Serum ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) berpotensi menjadi solusi preventif terhadap kerusakan kulit akibat paparan UV-B. Kandungan flavonoid dan isothiocyanates dalam daun kelor mampu menekan TNF- α serta memodulasi VEGF, sehingga menghambat jalur inflamasi dan angiogenesis yang menjadi dasar *photoaging*.⁵⁻⁷ Aktivitas antioksidan dan antiinflamasi ekstrak kelor juga berperan dalam melindungi matriks ekstraseluler, menurunkan stres oksidatif, dan menjaga elastisitas kulit.⁸ Berbagai penelitian *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan bahwa kelor dapat meminimalkan kerusakan seluler akibat radikal bebas, sehingga mendukung konsep dermatologi modern *skin longevity* melalui pendekatan preventif dengan bahan alami yang aman.⁹ Pemanfaatan serum topikal berbasis ekstrak kelor diharapkan menjadi alternatif intervensi yang efektif dan berkelanjutan untuk mencegah penuaan dini kulit.

Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh serum ekstrak daun kelor terhadap kadar TNF- α dan VEGF pada tikus Wistar jantan yang dipapar sinar UV-B. Evaluasi ini bertujuan menilai kemampuan ekstrak kelor dalam menekan inflamasi dan angiogenesis yang diinduksi UV-B, sekaligus memberikan pembandingan dengan niacinamide gel sebagai standar topikal yang telah terbukti secara klinis. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam memahami mekanisme molekuler *anti-photoaging* ekstrak kelor, memperkuat bukti empiris penggunaan bahan alami sebagai strategi *skin longevity* dan mendukung pengembangan formulasi serum topikal yang aman serta efektif.

1.2 Rumusan Masalah

Adakah pengaruh serum ekstrak *Moringa oleifera* terhadap kadar TNF- α dan VEGF 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 TNF- α dan VEGF pada kulit tikus Wistar yang terpapar UVB.

1.3.2. Tujuan Khusus

Penelitian ini memiliki tujuan khusus:

1. Mengetahui perbedaan kadar TNF- α 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 VEGF 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 serum ekstrak *Moringa oleifera* yang lebih efektif dalam mempengaruhi kadar TNF- α dan VEGF antara dosis 10% dan 15% pada kulit tikus Wistar yang terpapar UVB.

1.4 Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

No Peneliti, Tahun	Judul	Metode	Hasil Penelitian
1 Kumugai et al. 2021	<i>Topical Administration of 15-Deoxy-$\Delta^{12,14}$-Prostaglandin J₂ Using a Nonionic Cream: Effect on UVB-Induced Skin Oxidative, Inflammatory, and Histopathological Modifications in Mice</i>	<i>In vivo</i>	Radiasi UVB menjadi ancaman untuk kesehatan kulit. UVB dapat meningkatkan edema, produksi sitokin, sunburn, penebalan epidermis dan degradasi collagen. Hasil penelitian menunjukkan TFcPGJ ₂ dapat menghambat dan mengobati semua kerusakan kulit tikus yang disebabkan oleh paparan UVB, seperti mencegah penurunan kadar glutathione (GSH), mengurangi peningkatan radikal bebas, dan aktivitas katalase ¹⁰ .

2	Fadhilah, 2024.	Uji Efektivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Kelor (<i>Moringa Oleifera</i> L.) Pada Tikus Jantan Galur Wistar	<i>In Vivo</i>	Pengujian dilakukan pada dosis yang berbeda-beda yaitu 25, 50, serta 100 mg/kg ekstrak daun kelor. Dosis 100 mg/kg menunjukkan aktivitas antiinflamasi paling baik dengan menurunkan udema pada kaki tikus. Penurunan udema dari jam ke-1 hingga jam ke-6 tidak memiliki perubahan yang signifikan ($p>0,05$). Aktivitas ini diduga dari senyawa flavonoid dan isothiocyanates yang dikandung oleh daun kelor ¹¹ .
3	Robby et al., 2022	Pengaruh Variasi Konsentrasi Ekstrak Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i> Lamk) Terhadap Efek Antiinflamasi Sediaan Emulgel	<i>In Vivo</i>	Sediaan Gel yang digunakan dalam penelitian menggunakan ekstrak etanol kelor dengan berbagai konsentrasi, yaitu 5%, 7,5%, dan 10%. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektifitas sifat antiinflamasi, yang diperlihatkan oleh ekstrak konsentrasi 10% dengan penurunan inflamasi yang paling tinggi dan signifikan berbeda dibanding ekstrak konsentrasi 7,5%, 5%, dan kontrol negatif ¹² .
4	Dyah, et al., 2024	Analisa Zat Aktif Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>) Sebagai Studi Awal Obat Kanker	<i>In Vitro</i>	Seratus milligram daun kelor memiliki kandungan flavonoid kuersetin sebesar 10,39 setelah diekstraksi selama 72 jam, sementara itu, daun kelor yang diekstraksi selama 48 jam hanya memiliki kadar 7,40 dan selama 24 jam memiliki kadar 5,08 ¹³ .
5	Wulan et al., 2021	Potensi Ekstrak Etanol Daun Kelor sebagai Antiinflamasi, Penetapan Kadar Flavanoid Total	<i>In Vitro</i>	Kandungan flavonoid pada ekstrak daun kelor memiliki rata-rata 8,33 mg/100 gram. Uji daya antiinflamasi ekstrak etanol daun kelor yang setara dengan Na diklofenak adalah 35 mg/KgBb ¹⁴ .

6	Rachmania et al., 2024	<i>Moringa oleifera</i> leaf extract ameliorates collagen degradation via the inhibition of MMP-3 expression in UVB-induced rats	In Vivo	Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor (<i>Moringa oleifera</i>) 5% dan 10% mengurangi ekspresi gen MMP-3 serta meningkatkan densitas kolagen secara signifikan ($p < 0,05$) jika dibandingkan kontrol negatif ¹⁵ .
7	Mayangsari, et al., 2024	Comparison of UVA vs UVB Photoaging Rat Models in Short-term Exposure	In Vivo	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 ¹⁶ .

Daun kelor telah menjadi salah satu tumbuhan yang sering dipakai sebagai terapi antiinflamasi. Pada penelitian sebelumnya, daun kelor telah digunakan untuk mengatasi edema pada kaki tikus.¹¹ Selain itu, penelitian lain melaporkan bahwa daun kelor dapat menurunkan ekspresi gen MMP-3 yang menjadi biomarker inflamasi.¹⁵ Penelitian berikutnya juga menunjukkan bahwa daun kelor dapat membunuh bakteri *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis*, serta efektif untuk mengobati jerawat. Meskipun berbagai studi telah membuktikan aktivitas antiinflamasi daun kelor, hingga kini belum terdapat penelitian yang mengevaluasi penggunaannya sebagai terapi pencegahan *photoaging* akibat paparan radiasi UVB.

Beberapa studi terdahulu juga telah meneliti sumber sifat antiinflamasi dan antioksidan yang dimiliki oleh daun kelor. sebelumnya melaporkan bahwa kadar flavonoid kuersetin pada ekstrak daun kelor meningkat secara signifikan setelah proses ekstraksi selama 72 jam dibandingkan dengan 48 jam maupun 24

jam.¹³ Namun, penelitian tersebut hanya menilai kandungan bioaktif yang berpotensi memberikan efek antiinflamasi tanpa disertai pengujian pra-klinik maupun klinik untuk memastikan aktivitas biologisnya.

Dosis ekstrak yang digunakan pada penelitian ini adalah 10% dan 15%, yang ditetapkan berdasarkan variasi dosis yang pernah digunakan pada studi sebelumnya. Penelitian sebelumnya telah menggunakan variasi dosis ekstrak daun kelor dalam sediaan topikal, dengan rentang konsentrasi antara 5% hingga 12,5%. Studi-studi tersebut umumnya menunjukkan bahwa dosis tertinggi dalam rentang tersebut memberikan efek paling optimal.¹² Oleh karena itu, penelitian ini menambahkan variasi dosis hingga 15% untuk mengevaluasi apakah peningkatan konsentrasi ekstrak dapat menghasilkan efektivitas yang lebih baik.

Berdasarkan kajian literatur yang ada, belum ditemukan penelitian yang menggunakan daun kelor sebagai terapi pencegahan kerusakan kulit akibat radiasi UVB. Oleh karena itu, penelitian ini menerapkan model pendekatan preventif selama 14 hari dengan pemberian serum sebelum paparan UVB. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh serum ekstrak daun kelor terhadap pencegahan *photoaging* dengan mengukur biomarker TNF- α dan VEGF.

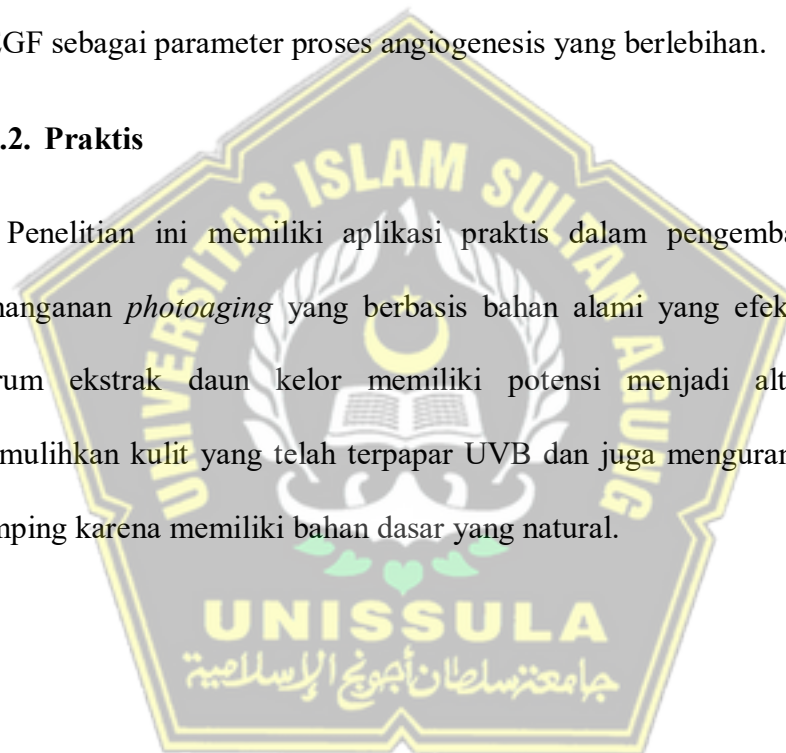
1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1. Teoritis

Penelitian ini memberikan kontribusi ilmiah dalam memperdalam pemahaman tentang peran serum ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) sebagai agen alami untuk mencegah *photoaging*. Hasil penelitian ini juga dapat memperkaya literatur mengenai kadar TNF- α sebagai parameter inflamasi dan VEGF sebagai parameter proses angiogenesis yang berlebihan.

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 II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α)

Tumour Necrosis Factor alpha (TNF- α), adalah sitokin proinflamasi yang diproduksi oleh makrofag atau monosit pada fase inflamasi akut. Molekul ini berperan dalam berbagai jalur pensinyalan intraseluler yang dapat memicu terjadinya nekrosis maupun apoptosis. Protein ini juga penting untuk ketahanan terhadap infeksi dan kanker. Fungsi utama TNF- α adalah mengatur respons imun, respon inflamasi, apoptosis dan metabolisme sel.

TNF- α akan diproduksi jika ada faktor eksternal yang mempengaruhi tubuh. Patogen seperti bakteri gram negatif akan mengeluarkan lipopolisakarida dan mengaktifkan makrofag, yang akan memproduksi TNF- α . TNF- α juga berkontribusi dalam aktivasi neutrophil, platelet, meningkatkan kemampuan makrofag dan sel NK, serta menstimulasi sistem imun lainnya. Faktor lainnya adalah paparan UVB merangsang keratinosit kulit untuk memproduksi TNF- α , berkontribusi pada *photoaging*¹⁷⁻¹⁹.

Aktivitas TNF- α dimediasi oleh dua reseptor permukaan, TNF-R1 (p55) dan TNF-R2 (p75). TNF-R1 bersifat apoptosis sementara TNF-R2 bersifat anti-apoptosis. TNF-R1 diekspresikan dalam berbagai sel tumor dan sel endothelial tumor, sementara TNF-R2 diekspresikan di berbagai sel imun termasuk sel T regulator, sel myeloid supresi, dan beberapa sel kanker. TNF- α memiliki peran

dalam pathogenesis beberapa penyakit, sehingga TNF- α bisa menjadi target therapeutic yang menjanjikan^{17,18}.

2.1.1. Mekanisme Produksi TNF- α

Radiasi ultraviolet (UV) dari sinar matahari, terutama UVA dan UVB, merupakan penyebab utama kerusakan kulit akibat lingkungan, termasuk inflamasi kulit, penuaan kulit dini, dan kanker kulit. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa aktivasi NF- κ B pada fibroblas kulit manusia dan keratinosit setelah paparan sinar UV menginduksi ekspresi dan pelepasan sitokin proinflamasi, seperti *interleukin-1* (IL-1) dan *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), dan kemudian mengarah pada produksi *Matrix Metalloproteinase* (MMP) dan *basic Fibroblast Growth Factor* (bFGF). Produksi MMPs yang tinggi akan turut menyebabkan degradasi konstan dari protein seperti collagen, gelatin, dan elastin²⁰.

TNF- α berkaitan dengan beberapa respons inflamasi pada kulit. TNF- α yang disekresikan akan merangsang sel endotel untuk merekrut sel imun yang bersirkulasi, yang mengeluarkan MMP, dan kemudian menginduksi degradasi serat kolagen, yang mengakibatkan kerusakan kulit lokal. TNF- α menstimulasi jalur transduksi sinyal yang terlibat dalam aktivasi NF- κ B, yang mengarah ke siklus yang memperkuat aktivitas NF- κ B. Aktivasi NF- κ B yang diinduksi oleh TNF- α jelas diperlukan untuk ekspresi MMP-9 pada fibroblas kulit manusia dan

aktivasi pro-MMP-2 melalui induksi MT1-MMP pada kulit manusia. Selain itu, ekspresi berlebih dari MMP-1 dan MMP-13 diamati setelah aktivasi NF- κ B pada sinoviosit mirip fibroblas. Aktivasi NF- κ B juga diperlukan untuk pengaturan MMP-1 dan MMP-3 dalam fibroblas. Oleh karena itu, *photoaging* kulit dapat dicegah dengan dengan mensupresi ekspresi MMP dengan inaktivasi NF- κ B²⁰.

2.2 VEGF

Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) adalah keluarga polipeptida yang disekresikan dengan struktur cystine-knot yang sangat terkonservasi, berperan dalam perkembangan pembuluh darah (angiogenesis) dan limfatik. VEGF terdiri atas VEGF-A (anggota paling dominan), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, dan *Placental Growth Factor* (PlGF), VEGF-E yang dihasilkan oleh virus parapoxvirus (Orf), serta reseptor tirosin kinase (VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3) dan koreseptor neuropilin (NRP1/2).²¹

Produksi VEGF dapat dipicu oleh *Hypoxia-Inducible Factor 1 alpha* (HIF-1 α), sitokin – sitokin inflamasi seperti IL-6 dan TNF- α serta mutasi genetik (misalnya kanker). Faktor-faktor ini akan meningkatkan ekspresi VEGF, dan bahkan dapat menghasilkan VEGF yang berlebih karena mutasi.²¹ VEGF memiliki peran penting dalam membentuk pembuluh darah baru, yang sering kali disebut angiogenesis. Dalam proses angiogenesis, VEGF juga akan meregulasi suplai nutrisi pada jaringan yang rusak. Overekspresi VEGF dapat memicu efek patologis. Salah satunya adalah overekspresi VEGF-A yang akan

mendukung angiogenesis tumor serta metastasis. Overekspresi VEGF juga dapat terjadi pada penyakit autoimun, yang akan memperparah kondisi pasien.²¹

2.2.1. Mekanisme Produksi VEGF

Mekanisme Produksi VEGF diawali dari Regulasi Genetik, yaitu Gen VEGF-A terletak di kromosom 6p21.3 dan menghasilkan berbagai isoform melalui *alternative splicing* (misalnya VEGF121, VEGF165). Isoform VEGF165 memiliki domain pengikat heparin, memengaruhi distribusi di matriks ekstraseluler. Isoform VEGF ini berikatan dengan VEGFR2 (KDR/Flk-1) untuk mengaktifkan jalur PI3K/Akt dan MAPK, merangsang proliferasi sel endotel, sementara VEGFR1 (Flt-1) berperan dalam modulasi respons inflamasi dan patologis. Reseptor VEGF ditemukan di permukaan luminal (menghadap darah) dan abluminal (menghadap jaringan) sel endotel, memengaruhi distribusi VEGF, yang akan mempengaruhi proses angiogenesis.²¹

2.2.2. VEGF dan *Photoaging*

Saat kulit rusak karena *photoaging*, VEGF akan memicu proses angiogenesis yang segera membentuk pembuluh darah baru dan memperbaiki jaringan kulit tersebut. VEGF akan meningkatkan suplai nutrisi dan oksigen pada jaringan kulit yang rusak, mendorong regenerasi sel dan perbaikan matriks ekstraseluler. Selain itu, dalam kondisi tertentu VEGF juga dapat mengurangi stres oksidatif dengan meningkatkan aktivitas antioksidan seperti SOD dan katalase. Namun

jika paparan UV telah berlangsung dalam waktu yang lama dan menjadi kronis, akan terjadi overekspresi VEGF yang menyebabkan angiogenesis abnormal, yang akan meningkatkan permeabilitas pembuluh darah, dan memperparah inflamasi kulit, sehingga turut berkontribusi pada pembentukan keriput dan elastosis²²⁻²⁵.

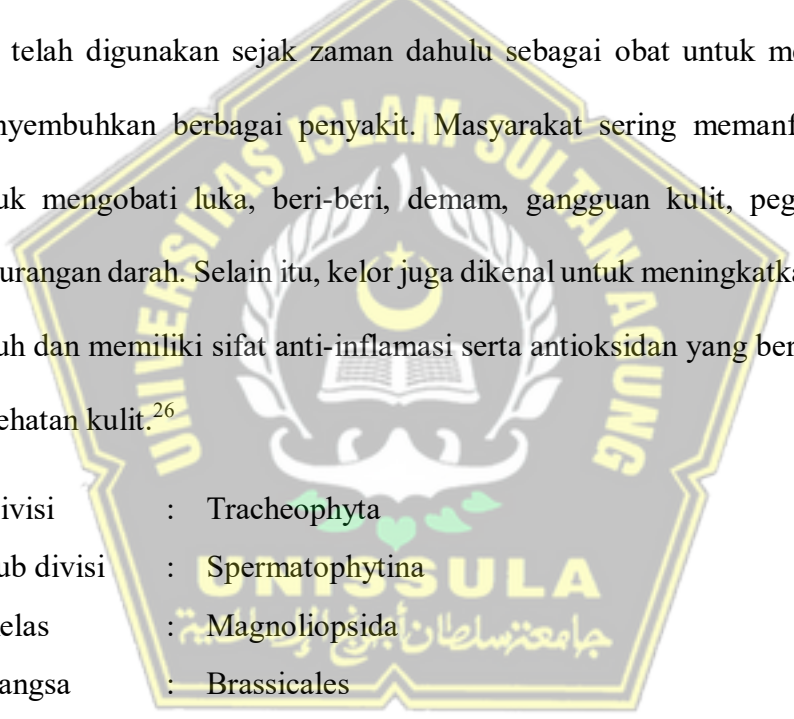
Paparan UVB dan UVA meningkatkan ekspresi VEGF melalui jalur *Hypoxia-Inducible Factor-1 α* (HIF-1 α) dan NF- κ B, terutama di keratinosit dan fibroblast. Selain itu, UV juga menginduksi produksi ROS, yang selanjutnya merangsang sekresi VEGF melalui aktivasi jalur MAPK/AP-1. Ekspresi VEGF yang berlebihan ini akan meningkatkan degradasi kolagen dengan mengaktifkan MMP-1, MMP-3, dan MMP-9 melalui pensinyalan TGF- β /Smad yang terganggu. Pada saat yang sama, VEGF merangsang sintesis kolagen baru melalui aktivasi fibroblas, tetapi keseimbangan ini sering terganggu pada kulit *photoaging*, sehingga menyebabkan akumulasi serat elastin abnormal (elastosis). VEGF dapat memperparah respons inflamasi dengan meningkatkan produksi IL-6 dan TNF- α , yang mempercepat kerusakan kulit dan penuaan dini^{22,23}.

2.3 Daun Kelor

Kelor berasal dari India Utara dan Pakistan, kemudian menyebar ke wilayah Asia Tenggara. Tanaman ini dapat beradaptasi dengan baik di lingkungan tropis, termasuk di Indonesia, dan biasanya dimanfaatkan sebagai

sayuran. Tumbuhan kelor adalah pohon dengan tinggi mencapai 3-10 meter, batangnya berkayu, bulat, bercabang, serta memiliki bintik hitam dengan warna putih kotor atau abu-abu. Daun kelor memiliki banyak manfaat dan hampir seluruh bagian tumbuhan ini dapat digunakan sebagai obat, terutama daun dan bijinya.²⁶

Kandungan kimia utama daun kelor antara lain adalah protein, vitamin A, B, dan C, β -karoten, serta flavonoid. Tanaman kelor memiliki banyak manfaat dan telah digunakan sejak zaman dahulu sebagai obat untuk mencegah atau menyembuhkan berbagai penyakit. Masyarakat sering memanfaatkan kelor untuk mengobati luka, beri-beri, demam, gangguan kulit, pegal linu, atau kekurangan darah. Selain itu, kelor juga dikenal untuk meningkatkan daya tahan tubuh dan memiliki sifat anti-inflamasi serta antioksidan yang bermanfaat bagi kesehatan kulit.²⁶



Divisi	: Tracheophyta
Sub divisi	: Spermatophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Brassicales
Suku	: Moringaceae
Marga	: <i>Moringa</i>
Jenis	: <i>Moringa oleifera</i> Lam.
Sinonim	: <i>Moringa pterygosperma</i> Gaertn. <i>Guilandina moringa</i> L.



Gambar 2.1 Tumbuhan Kelor²⁷

Penelitian terdahulu menyatakan bahwa secara kuantitatif 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%), serta kandungan vitamin dan mineral 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)²⁸. Kandungan fitokimia pada daun kelor terdiri dari alkaloid (10,73%), saponin (18,46%), Total flavonoids (8,53%) dan tanin (11,43%).²⁹

Berbagai penelitian telah mengonfirmasi manfaat daun kelor secara ilmiah. Daun kelor telah diuji baik secara praklinik maupun klinik, dan terbukti memiliki khasiat sebagai antianemia, antidiabetes mellitus, antihiperlipidemia, antikonvulsan, serta memiliki sifat antiinflamasi dan analgesik. Berdasarkan studi sebelumnya, ekstrak etanol dari daun kelor terbukti efektif dalam menghambat edema yang terjadi pada tikus jantan.^{26,30}

Pada penelitian lain, kelor juga dipercaya memiliki sifat *neuroplasticity*, yang dapat meningkatkan pemulihan luka iskemik reperfusi serebral, dengan

memodulasi berbagai jalur sinyal molecular, termasuk PI3K/Akt, BDNF/CREB, JAK/STAT, HIF-1 α /VEGF, dan lainnya³¹.

2.3.1. Zat Aktif pada Kelor yang Berperan dalam Penyembuhan Kulit

Beberapa komponen aktif dalam *Moringa oleifera* telah terbukti berperan dalam mempercepat penyembuhan kulit. Salah satunya adalah flavonoid (seperti Quercetin, Kaempferol, dan Rutin). Senyawa ini berfungsi untuk menghambat produksi TNF- α dengan menghalangi jalur NF- κ B dan MAPK, mengurangi inflamasi pada kulit yang disebabkan oleh paparan UVB atau infeksi bakteri, serta menurunkan kadar MDA berkat kemampuannya sebagai antioksidan, yang melindungi membran sel dari kerusakan akibat peroksidasi lipid⁷.

Zat aktif lainnya adalah isothiocyanates (seperti Niazimin A&B), yang berperan dalam mengatur respons inflamasi dengan menurunkan ekspresi IL-6 dan TNF- α pada luka kulit serta menghambat pembentukan ROS. Selain itu, Isothiocyanates dianggap memiliki potensi untuk menghambat angiogenesis pada sel kanker, sebuah proses yang dipengaruhi oleh VEGF. Kandungan flavonoid, vitamin C, dan vitamin E juga berperan dalam mengurangi stres oksidatif, seperti yang terlihat dalam percobaan pada tikus⁵⁻⁷.

2.3.2. Studi Terdahulu Mengenai Penggunaan Daun Kelor

Beberapa studi sebelumnya telah menggunakan daun kelor untuk penyembuhan kulit. Ekstrak daun kelor memiliki sifat anti-inflamasi

dengan mengurangi produksi $\text{TNF-}\alpha$ pada keratinosit yang terpapar UVB atau bakteri *Propionibacterium acnes*. Polifenol yang terkandung dalam daun kelor, seperti asam klorogenat, terbukti efektif dalam menetralkan radikal bebas, menurunkan kadar MDA, serta mencegah kerusakan pada jaringan kulit^{32–36}.

Penelitian lain juga menyatakan bahwa *Moringa oleifera* memiliki sifat *retinoprotective* pada tikus yang terkena penyakit *diabetic retinopathy*. Daun kelor dapat menurunkan ekspresi inflamasi ($\text{TNF-}\alpha$ and $\text{IL-1}\beta$) and angiogenic (VEGF and $\text{PKC-}\beta$) yang tinggi pada tikus yang telah mengalami diabetes³⁷.

Pada penelitian lain, ekstrak daun *Moringa oleifera* dapat menyembuhkan luka infeksi pada tikus diabetes yang membuktikan adanya sifat antimikroba, antioksidan, dan proliferasi. Penelitian kadar VEGF dan $\text{TGF-}\beta 1$ yang meningkat membuktikan adanya sifat proliferasi untuk meningkatkan perbaikan jaringan serta sel endotelial. Pada penelitian lain, ditemukan potensi daun *Moringa oleifera* dalam menghambat proses angiogenesis pada sel kanker pada tikus wistar Jantan. *Moringa oleifera* dapat mengatur ekspresi sitokin, salah satunya VEGF dan $\text{TNF-}\alpha$, untuk menyeimbangkan kebutuhan tubuh^{38,39}.

Penelitian terdahulu juga telah melakukan pengujian terkait keamanan penggunaan daun kelor, terutama pada organ hati. Hasil

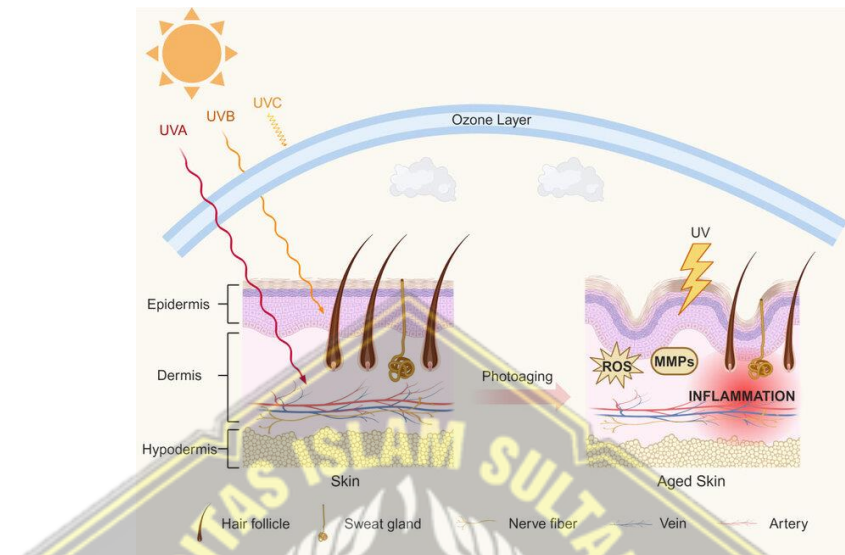
penelitian menunjukkan adanya perubahan berat badan dan berat organ hati tikus, serta adanya kerusakan dan penurunan jumlah sel normal di hati, jika diberikan ekstrak daun kelor dengan dosis 2200 mg/kgBB. Walau demikian, tidak ada laporan mengenai kematian tikus⁴⁰.

2.4 Photoaging

Kulit, sebagai organ terbesar tubuh, sering menunjukkan tanda-tanda penuaan seiring bertambahnya usia. Penuaan kulit dapat dipengaruhi oleh faktor internal seperti genetika dan faktor eksternal yang berkaitan dengan lingkungan serta gaya hidup. Salah satu pengaruh eksternal yang signifikan adalah paparan radiasi ultraviolet (UV) secara kronis, yang dapat menyebabkan *photoaging* atau penuaan dini. *Photoaging* dapat menampakkan berbagai tanda kerusakan pada kulit, seperti keriput, bintik hitam, kulit kering, kasar, dan perubahan pigmentasi.⁴¹

Proses *photoaging* terjadi akibat radiasi UV (UVA/UVB) yang menembus lapisan epidermis dan dermis, menyebabkan mutasi DNA, pembentukan radikal bebas (ROS), serta kerusakan pada kolagen dan elastin. Paparan UV merangsang MMPs yang berfungsi untuk memecah kolagen dan menghambat sintesis kolagen baru, sehingga elastisitas kulit menurun dan kulit menjadi kendur. Selain itu, UV juga merangsang pelepasan sitokin proinflamasi seperti IL-6 dan TNF- α , yang memperburuk kerusakan jaringan kulit^{42,43}. Proses ini dapat dilihat pada Gambar 2.2 yang menunjukkan mekanisme penetrasi sinar

ultraviolet ke dalam lapisan kulit, serta aktivasi jalur inflamasi dan stres oksidatif yang berperan dalam proses *photoaging*.



Gambar 2.2 Paparan Sinar UV terhadap kulit⁴⁴

Apabila kulit terus-menerus terpapar sinar UV, kerusakan pada kulit akan semakin parah. Efek jangka pendek dari *photoaging* meliputi kulit kering, kusam, dan erythema (kemerahan). Sedangkan efek jangka panjangnya meliputi keriput yang lebih dalam, elastosis (penebalan jaringan ikat), hiperpigmentasi seperti bintik hitam, serta pori-pori membesar akibat kerusakan pada serat elastin. *Photoaging* juga meningkatkan risiko kanker kulit karena akumulasi mutasi DNA⁴⁵.

2.5 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 ^{46,47}.

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 ROS yang merusak kolagen, elastin, dan lipid membran sel, protein, DNA serta mempercepat *photoaging*. ROS juga turut menghambat aktivitas enzim antioksidan alami seperti SOD dan CAT yang memiliki peran dalam menjaga elastisitas kulit⁴⁸, sehingga memperburuk kerusakan kolagen dan elastin di dermis⁴⁹. 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 ^{46,47,50,51}.

Paparan sinar ultraviolet juga mengganggu diferensiasi keratinosit di epidermis. Ekspresi kolagen tipe VII pada keratinosit menurun di area yang terpapar ultraviolet. Kolagen tipe VII ini berfungsi untuk menahan fibril di persimpangan antara dermis dan epidermis. Penurunan produksi kolagen tipe VII berkontribusi pada terbentuknya keriput, karena hubungan antara dermis dan epidermis menjadi lebih lemah ^{52,53}.

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^{52,53}

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa aktivasi NF- κ B pada fibroblas kulit manusia dan keratinosit setelah paparan sinar UV menginduksi ekspresi dan pelepasan sitokin proinflamasi, seperti *interleukin-1* (IL-1), *interleukin-6* (IL-6), dan *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- α), dan kemudian mengarah pada produksi MMP dan bFGF⁵⁴.

Saat kulit terpapar UVB, VEGF akan memicu proses angiogenesis yang segera membentuk pembuluh darah baru dan memperbaiki jaringan kulit tersebut. VEGF akan mendorong regenerasi sel dan perbaikan matriks ekstraseluler. Selain itu, dalam kondisi tertentu VEGF juga dapat mengurangi stres oksidatif dengan meningkatkan aktivitas antioksidan seperti SOD dan katalase. Namun jika paparan UV telah berlangsung dalam waktu yang lama dan menjadi kronis, akan terjadi overekspresi VEGF yang menyebabkan angiogenesis abnormal, yang akan meningkatkan permeabilitas pembuluh darah, dan memperparah inflamasi kulit, sehingga turut berkontribusi pada pembentukan keriput dan elastosis²²⁻²⁵.

2.6 Serum

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

antioksidan, peptida, dan vitamin. Berbeda dengan pelembab, serum tidak mengandung bahan oklusif (seperti petrolatum), sehingga lebih mudah meresap ke dalam lapisan kulit. Selain untuk perawatan kecantikan, serum juga dapat digunakan dalam pengobatan, seperti serum anti-tetanus, yang mengandung antibodi untuk memberikan imunitas pasif.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa serum yang mengandung ekstrak *Moringa oleifera* efektif dalam mengatasi masalah kulit. Ekstrak ini diperoleh dari berbagai bagian tanaman *Moringa oleifera*, seperti daun, biji, dan minyaknya. Zat aktif utama yang terdapat pada ekstrak daun kelor adalah flavonoid (seperti Quercetin, Kaempferol, dan Rutin) yang dapat mengurangi produksi IL-6 dan TNF- α dengan menghambat jalur NF- κ B dan MAPK, serta mengurangi inflamasi kulit akibat paparan UVB dan menurunkan kadar MDA. Selain itu, isothiocyanates (seperti Niazimin A&B) yang terkandung dalam ekstrak kelor memiliki efek anti-inflamasi dengan menurunkan ekspresi IL-6 dan TNF- α , serta menghambat pembentukan ROS. Isothiocyanates juga dianggap memiliki potensi untuk menghambat angiogenesis pada sel kanker, sebuah proses yang dipengaruhi oleh VEGF. Ekstrak ini juga mengandung Vitamin E dan β -karoten, yang keduanya memiliki sifat antioksidan⁵⁻⁷.

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori

Kelor merupakan tumbuhan yang telah cukup banyak dipakai sebagai pengobatan. Secara kuantitatif, kandungan fitokimia pada daun kelor terdiri dari alkaloid (10,73%), saponin (18,46%), total flavonoids (8,53%) dan tanin (11,43%).²⁹ Beberapa komponen aktif dalam *Moringa oleifera* telah terbukti berperan dalam mempercepat penyembuhan kulit. Salah satunya adalah flavonoid (seperti quercetin, kaempferol, dan rutin). Senyawa ini berfungsi untuk menghambat produksi TNF- α dengan menghalangi jalur NF- κ B dan MAPK, mengurangi inflamasi pada kulit yang disebabkan oleh paparan UVB atau infeksi bakteri, serta menurunkan kadar MDA berkat kemampuannya sebagai antioksidan, yang melindungi membran sel dari kerusakan akibat peroksidasi lipid⁷.

Zat aktif lainnya adalah isothiocyanates (seperti Niazimin A&B), yang berperan dalam mengatur respons inflamasi dengan menurunkan ekspresi IL-6 dan TNF- α pada luka kulit serta menghambat pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Selain itu, isothiocyanates dianggap memiliki potensi untuk menghambat angiogenesis pada sel kanker, sebuah proses yang dipengaruhi oleh VEGF. Kandungan Flavonoid, Vitamin C, dan Vitamin E juga berperan dalam mengurangi stres oksidatif, seperti yang terlihat dalam percobaan pada tikus⁵⁻⁷.

Photoaging dapat terjadi apabila kulit terus-menerus terpapar rangsangan eksternal, seperti paparan sinar radiasi UVB. UVB dapat menembus lapisan epidermis dan menyebabkan mutasi DNA pada sel keratinosit, termasuk pembentukan *Cyclobutane Pyrimidine Dimers* (CPD) dan 6-4 photoproducts. Kerusakan ini memicu apoptosis sel (*sunburn cells*) dan mengaktifkan respons perbaikan DNA yang tidak sempurna, yang berisiko menyebabkan karsinogenesis. UVB juga menghasilkan radikal bebas (ROS) yang mengoksidasi lipid membran sel, protein, dan DNA. ROS ini turut menghambat aktivitas enzim antioksidan alami seperti SOD dan CAT yang memiliki peran dalam menjaga elastisitas kulit⁴⁸, sehingga memperburuk kerusakan kolagen dan elastin di dermis⁴⁹.

UVB mengaktifasi enzim *Matrix Metalloproteinases* (MMPs) yang memecah kolagen dan menghambat sintesis kolagen baru, sehingga menyebabkan kulit menjadi kendur dan keriput. Kerusakan pada sel memicu pelepasan sitokin pro-inflamasi seperti IL-6 dan TNF- α melalui jalur NF- κ B, yang memperburuk inflamasi dan mempercepat proses penuaan kulit. Selain itu, akumulasi *malondialdehyde* (MDA) sebagai produk dari peroksidasi lipid semakin merusak membran sel⁴⁹. Paparan sinar ultraviolet juga mengganggu diferensiasi keratinosit di epidermis. Ekspresi kolagen tipe VII pada keratinosit menurun di area yang terpapar ultraviolet. Kolagen tipe VII ini berfungsi untuk menahan fibril di persimpangan antara dermis dan epidermis. Penurunan produksi kolagen tipe VII berkontribusi pada terbentuknya keriput, karena hubungan antara dermis dan epidermis menjadi lebih lemah^{52,53}.

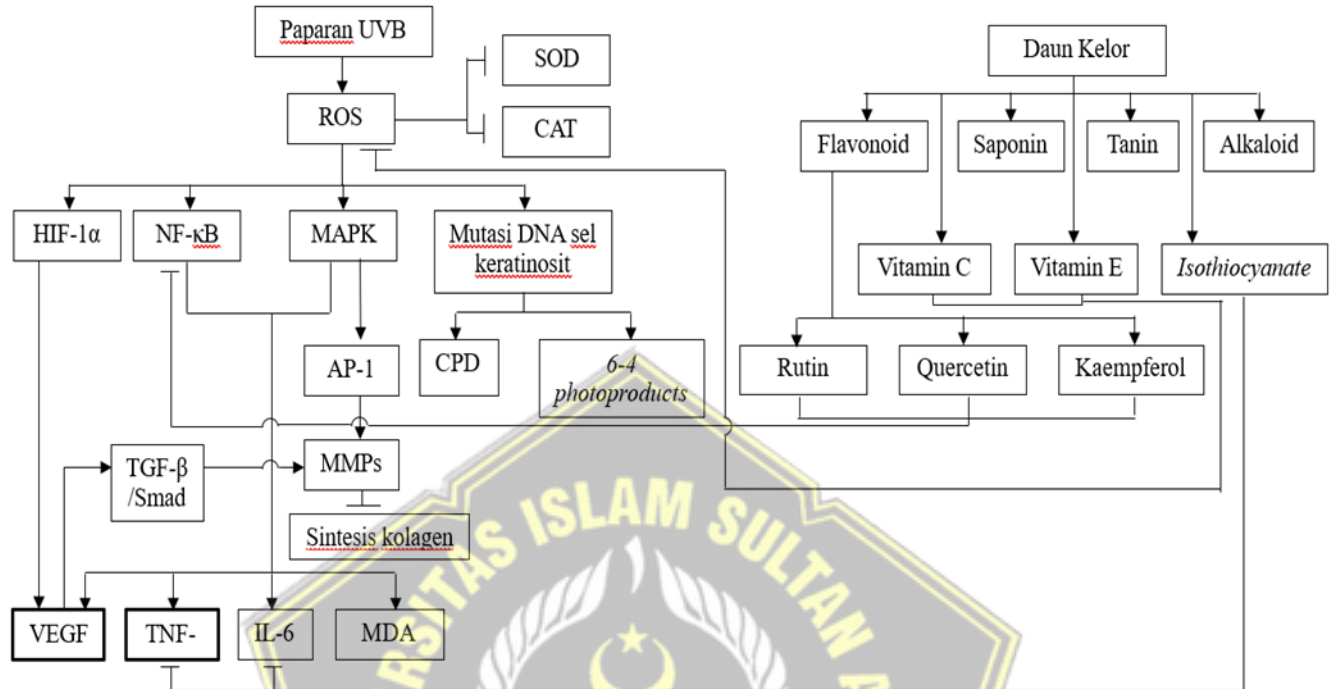
Elastosis adalah karakteristik penuaan kulit berupa penumpukan jaringan elastin abnormal di lapisan dermis. Sinar ultraviolet meningkatkan ekspresi elastin empat kali lipat sehingga menimbulkan elastosis. Penurunan angiogenesis, penyimpangan ekspresi molekul adhesi, dan kerusakan fungsi vasodilatasi menyebabkan disfungsi edotel sehingga fungsi mikrovaskular menurun^{52,53}

Paparan UVB dan UVA juga meningkatkan ekspresi VEGF melalui jalur *Hypoxia-Inducible Factor-1 α* (HIF-1 α) dan NF- κ B, terutama di keratinosit dan fibroblast. Selain itu, UV juga menginduksi produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS), yang selanjutnya merangsang sekresi VEGF melalui aktivasi jalur MAPK/AP-1. Ekspresi VEGF yang berlebihan ini akan meningkatkan degradasi kolagen dengan mengaktifkan MMP-1, MMP-3, dan MMP-9 melalui pensinyalan TGF- β /Smad yang terganggu. Pada saat yang sama, VEGF merangsang sintesis kolagen baru melalui aktivasi fibroblas, tetapi keseimbangan ini sering terganggu pada kulit *photoaging*, sehingga menyebabkan akumulasi serat elastin abnormal (elastosis). VEGF dapat memperparah respons inflamasi dengan meningkatkan produksi IL-6 dan TNF- α , yang mempercepat kerusakan kulit dan penuaan dini^{22,23}.

Tumbuhan Kelor yang memiliki kandungan yang bersifat anti-inflamasi dan antioksidan ini sangat berpotensi dalam memulihkan kulit yang telah rusak karena *photoaging*. Selain itu, Tumbuhan Kelor memiliki potensi dalam memodulasi proses angiogenesis melalui produksi VEGF. Parameter untuk

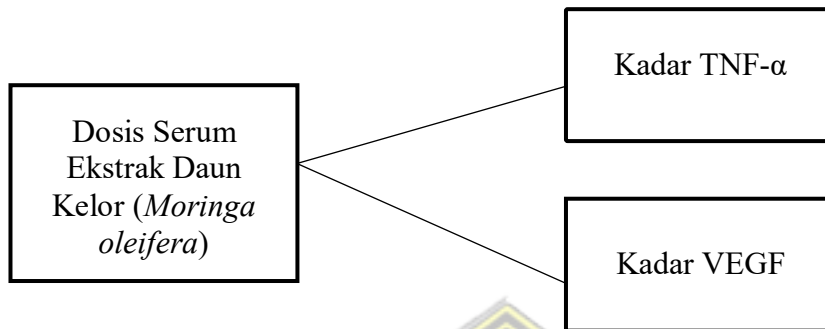
memastikannya adalah dengan mengukur turunnya kadar $\text{TNF-}\alpha$ dan kadar VEGF.





Gambar 3.1 Kerangka Teori

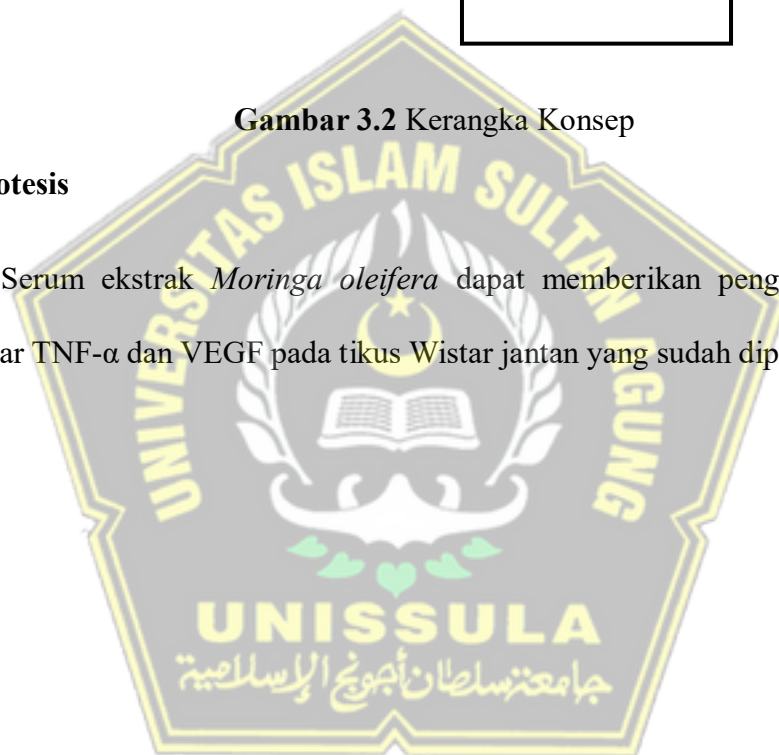
3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep

3.3 Hipotesis

Serum ekstrak *Moringa oleifera* dapat memberikan pengaruh terhadap kadar TNF- α dan VEGF pada tikus Wistar jantan yang sudah dipaparkan UVB.

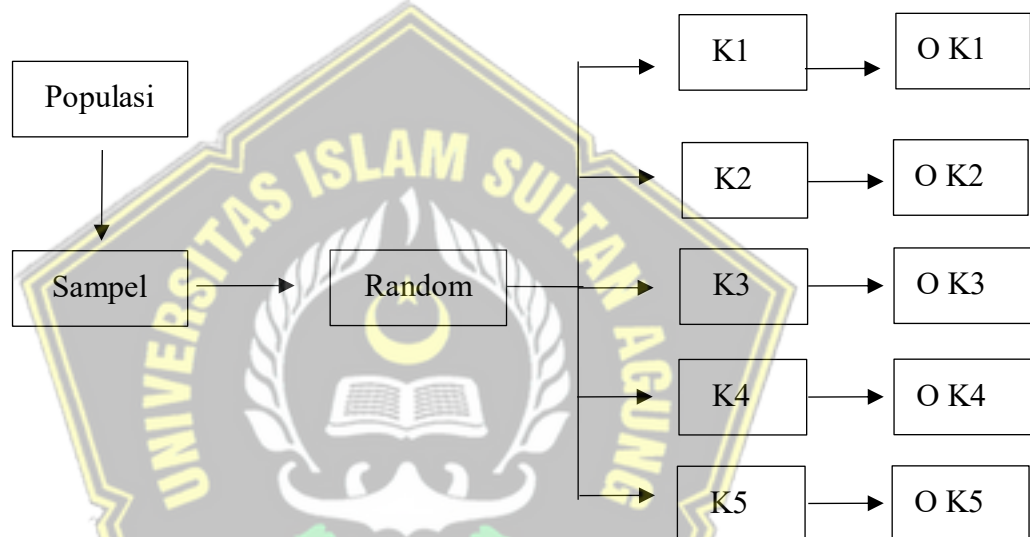


BAB IV

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 Rancangan Penelitian

Keterangan :

- a. K1 : Kontrol yaitu tikus sehat tanpa perlakuan.
- b. K2 : Kelompok Plasebo, tikus diberi paparan UVB dan diberikan basis serum.
- c. K3 : Kelompok Kontrol Positif, tikus diberi paparan UVB dan diolesi niacinamide gel.
- d. K4 : Kelompok perlakuan 1, tikus diberi paparan UVB dan diolesi serum ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) 10% secara topikal.

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

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah tikus jantan galur Wistar yang diperoleh dari diperoleh dari “Kemuning – *Your Partner for Health Research*”. Tikus berumur 2-3 bulan dan berat 200-250 gram. Tikus dipelihara dengan pakan pellet yang terstandar dan air minum berupa air putih dengan suhu ruangan pemeliharaan berkisar 28° – 32° C dan dilengkapi ventilasi ruangan yang cukup. Tikus kemudian dilakukan adaptasi selama 7 hari sebelum diberi perlakuan.

4.2.2. Besar Sampel

Besar sampel dapat dihitung menggunakan rumus Federer. Rumus Federer (1991) umumnya dipakai untuk menghitung sampel penelitian eksperimental, terutama untuk uji beda antara beberapa kelompok perlakuan.

Rumus Federer: $(t-1)(n-1) \geq 15$

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 penelitian ini, akan digunakan 5 ekor tikus jantan dengan tambahan 1 ekor cadangan untuk 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 serta tambahan 1 ekor cadangan tikus, 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. Tikus yang tidak ada kelainan morfologi (secara makroskopis)

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. Kriteria Drop Out

- a. Tikus mati saat penelitian berlangsung.

- b. Tikus sakit selama perlakuan.

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah plasebo yang menggunakan basis serum, kontrol positif yaitu niacinamide gel, serta serum ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan dosis 10% dan 15%. Pemilihan konsentrasi ini didasarkan pada penelitian sebelumnya yang menggunakan dosis ekstrak daun kelor dalam rentang 5-10% untuk aplikasi topikal.

Dalam studi mengenai efek antiinflamasi, konsentrasi yang paling efektif dan menunjukkan perbedaan signifikan pada sediaan emulgel ekstrak daun kelor adalah 10%, jika dibandingkan dengan konsentrasi 5% dan 7,5%¹². Penelitian ini membuktikan bahwa variasi konsentrasi dapat mempengaruhi efektivitasnya.

4.3.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar TNF- α dan VEGF.

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/cm² 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. Daun Kelor

Serum ekstrak daun kelor adalah sediaan topikal yang diformulasikan dengan mencampurkan ekstrak daun kelor ke dalam basis serum yang diperoleh dari PT Derma Elok Farma, yang dilengkapi dengan bahan tambahan seperti Carbopol 940, Propilen Glikol, Gliserin, TEA, serta air murni. Serum ini disiapkan dalam konsentrasi 10% dan 15%, yang kemudian akan dioleskan pada kulit punggung tikus yang telah dipaparkan sinar UVB sebanyak satu kali sehari selama 14 hari.

Satuan : Persentase (%)

4.3.4.2. *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α)

Tumor Necrosis Factor TNF- α (TNF- α) adalah sitokin yang berperan dalam respons imun dan inflamasi. Kadar TNF- α tinggi menjadi parameter terjadinya inflamasi ataupun cedera jaringan. Kadar TNF- α 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. *Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)*

Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) adalah molekul yang memicu proses angiogenesis. Kadar VEGF 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 40x30x30 cm
2. Timbangan analitik
3. Sarung tangan,
4. Lampu UVB untuk menginduksi *photoaging*
5. *Centrifuge* untuk memisahkan supernatan sampel jaringan kulit
6. Tabung ependorf,
7. Chamber untuk pewarnaan
8. Microtom dan pisau microtom
9. Termometer dan Hygrometer
10. Mikroskop dan kamera dokumentasi visual.
11. Mikropipet dan tip

12. Inkubator untuk menginkubasi sampel
13. *Freezer* dengan suhu -20°C
14. spektrofotometer,
15. ELISA reader,
16. *Microplate (96-wellplate)*
17. Alat bedah minor (pisau scalpel, pinset)
18. Water bath,
19. Gelas kimia,
20. Sduit dan needle,
21. Labu erlenmeyer,
22. Tabung reaksi
23. Kaca objek dan kaca penutup
24. *Punch biopsy*

4.4.2. Bahan

1. Ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) yang diperoleh dari PT INBI Nusantara Sejahtera.
2. Basis Serum yang diperoleh dari PT Derma Elok Farma,
3. Niacinamide gel
4. Larutan formalin 10% untuk fiksasi jaringan kulit sebelum analisis histopatologi
5. ELISA analisis kit
6. Plastik ELISA *Pre-coated plate*
7. Streptavidin-HRP

8. Substrat solusi A dan B
9. Reagen *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA)
10. Antibodi deteksi
11. Larutan *Phosphate-Buffered Saline* (PBS) untuk ekstraksi protein jaringan kulit.
12. Asam asetat
13. Asam klorida
14. Buffer pembilas
15. Larutan pemberhenti reaksi (*stop solution*)
16. Air suling/air deionisasi
17. Aseton

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 penelitian ini disusun dengan berpedoman pada prinsip 3R (*Replacement, Reduction, Refinement*), yang bertujuan untuk mengurangi penderitaan hewan sekaligus memastikan integritas ilmiah dan etika dari data yang diperoleh.

4.5.2. Cara Pembuatan Ekstrak Daun *Moringa oleifera*

Ekstrak daun kelor yang dipakai diperoleh dari PT INBI Nusantara Sejahtera. Proses ekstraksi dilakukan oleh Perusahaan ini. Untuk

memastikan efektivitas, keamanan, kualitas, dan stabilitas bahan aktif yang digunakan dalam penelitian ini, ekstrak daun kelor dilengkapi dengan *Certificate of Analysis* (COA) dan *Material Safety Data Sheet* (MSDS). Penggunaan ekstrak yang bersertifikat ini bertujuan untuk menjaga konsistensi kualitas bahan aktif dan meningkatkan validitas hasil penelitian.

4.5.3. Pembuatan Sediaan Serum Ekstrak Daun *Moringa oleifera*

Pembuatan sediaan serum Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dilakukan dengan menggunakan basis serum yang diperoleh dari PT Derma Elok Farma. Basis serum yang digunakan terdiri dari Carbopol 940, Propilen Glikol, Gliserin, TEA, dan air murni, serta bahan tambahan lain sesuai standar kosmetik topikal. Pembuatan sediaan serum ekstrak daun kelor dilakukan di Fakultas Kedokteran IBL, Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA). Dosis serum ditetapkan berdasarkan hasil ekstraksi, yaitu 10% dan 15%. Serum 10% dibuat dengan mencampurkan 2 g ekstrak etanol daun kelor dengan 18 g basis serum hingga mencapai bobot 20 g, sedangkan serum 15% diformulasikan dengan mencampurkan 3 g ekstrak ke dalam 17 g basis serum. Pencampuran ekstrak daun kelor dilakukan secara kuantitatif untuk melihat dosis yang paling optimal memberikan pengaruh terhadap kadar TNF- α dan VEGF.

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 dua kelompok kontrol dan tiga 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 $\pm 2 \text{ mg/cm}^2$ 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/cm^2 dengan jarak lampu 40 cm. Dosis 70 mJ/cm^2 dipilih karena efektif dalam memicu perubahan histologis yang merepresentasikan penuaan kulit. Sinar UVB dipaparkan selama 15 menit setiap harinya selama 14 hari. Sebagai tambahan, paparan ulang dapat diberikan 4 jam setelah aplikasi untuk memperkuat induksi *photoaging*.

4.5.7. Validasi Model *Photoaging*

Validasi model *photoaging* pada tikus dilakukan melalui penilaian makroskopis dan mikroskopis setelah paparan sinar UV-B untuk memastikan keberhasilan induksi kerusakan kulit.

- Validasi Makroskopis

Evaluasi makroskopis dilakukan dengan pengamatan visual pada area kulit punggung tikus. Parameter yang diamati meliputi eritema, kekasaran permukaan kulit, kemunculan kerutan, pengelupasan, serta perubahan warna kulit termasuk

hiperpigmentasi. Perbandingan dilakukan antara kelompok sehat (K1) dan kontrol negatif (K2). Model photoaging dinyatakan berhasil apabila K2 menunjukkan perubahan makroskopis yang nyata dibandingkan K1, sehingga menandakan efek paparan UV-B pada kulit.

- Validasi Mikroskopis

Validasi mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) pada sampel jaringan kulit untuk mengevaluasi jumlah sunburn cells di lapisan dermis. Pengamatan jaringan kulit dengan menggunakan mikroskop digital juga dilakukan. Model dianggap berhasil jika K2 menunjukkan perubahan histologis yang berbeda dibanding K1. Prosedur yang digunakan meliputi:

- a. Fiksasi Jaringan: Sampel kulit diawetkan menggunakan formalin 10% untuk mempertahankan struktur jaringan.
- b. Dehidrasi: Air jaringan dihilangkan melalui larutan etanol bertingkat.
- c. Embedding Parafin: Jaringan dimasukkan ke dalam parafin cair untuk mempermudah pemotongan.
- d. Pemotongan Jaringan: Irisan tipis dibuat menggunakan mikrotom.
- e. Deparafinasi: Parafin dihilangkan dengan xylol.

- f. Rehidrasi: Jaringan dipulihkan ke kondisi berair melalui larutan etanol bertingkat dan air.
- g. Pewarnaan Hematoxylin: Nukleus sel diwarnai biru atau ungu.
- h. Pewarnaan Eosin: Sitoplasma dan serat kolagen diwarnai merah muda hingga merah.
- i. Dehidrasi dan Mounting: Jaringan didehidrasi kembali dan ditutup dengan coverslip menggunakan media mounting.
- j. Pengamatan Mikroskopik: Slide diamati dengan mikroskop cahaya untuk analisis histologi dan verifikasi keberhasilan induksi photoaging.

Melalui evaluasi makroskopis dan mikroskopis ini, keberhasilan induksi model *photoaging* pada tikus dapat dipastikan, sehingga menjadi dasar yang valid untuk penelitian lebih lanjut mengenai efek perlakuan terhadap kulit yang terpapar sinar UV-B.

4.5.8. Terminasi dan Pengambilan Sampel

Pada hari ke-15, tikus diterminasi sesuai dengan prosedur etik. Jaringan kulit dari area punggung yang telah dipaparkan sinar UVB diambil menggunakan *punch biopsy* berdiameter 5 mm.⁵⁵ Selanjutnya, jaringan kulit tersebut dipisahkan untuk preparasi homogenat yang akan digunakan untuk mengukur kadar TNF- α dan VEGF dengan metode ELISA. Sampel jaringan segera disimpan dalam tabung vacutainer berisi EDTA untuk mencegah degradasi protein.

4.5.9. Prosedur Pengujian ELISA untuk Mengukur Kadar TNF- α pada Jaringan Tikus

Setelah perlakuan selesai, jaringan kulit diambil, didinginkan di -20°C, dan dianalisis dengan metode ELISA untuk mengukur kadar TNF- α . 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 mikrotiter plate 96-well, antibodi capture dan deteksi spesifik TNF- α , standar TNF- α , substrat peroksidase (TMB), buffer pembilas, solusi penghenti, dan sampel jaringan tikus (supernatan homogenat).
2. **Persiapan Sampel:** Homogenkan jaringan tikus dan sentrifugasi untuk mengambil serum, plasma, atau supernatan yang mengandung TNF- α . Sampel harus disimpan pada -80°C untuk menghindari degradasi.
3. **Coating:** Sebelumnya, mikrotiter plate 96-well dilapisi antibodi monoklonal anti- TNF- α sebagai *capture antibody*, inkubasi semalam pada 4°C
4. **Blocking:** Sumur pada mikrotiter plate diblok dengan 2% skim milk atau 1% BSA dalam PBS-Tween, inkubasi 1 jam pada suhu ruang.

5. Inkubasi: Sampel atau standar TNF- α ditambahkan sebanyak 100 μ L ke dalam mikropate dan diinkubasi selama 2 jam atau 1 jam (37°C) untuk membentuk kompleks antibodi-antigen. Kemudian, dilakukan pencucian sebanyak 3 kali untuk menghilangkan bahan tidak terikat.
6. Deteksi: Antibodi deteksi biotinilasi (1:2000 dalam *assay diluent*) ditambahkan, inkubasi 1 jam pada suhu ruang, diikuti dengan pencucian dan penambahan streptavidin-HRP untuk amplifikasi sinyal. Inkubasi Kembali selama 20-30 menit.
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 diukur absorbansinya pada 450 nm menggunakan mikropate reader

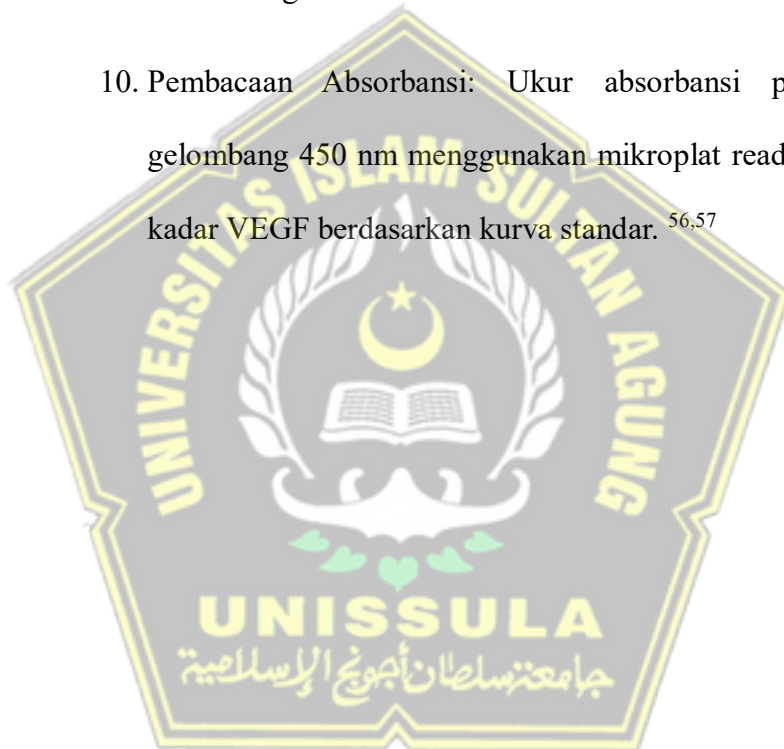
4.5.10. Prosedur Pengujian ELISA untuk Mengukur Kadar VEGF pada Jaringan Tikus

Setelah perlakuan selesai, jaringan kulit diambil, didinginkan di -20°C, dan dianalisis dengan metode ELISA untuk mengukur kadar VEGF. Pengambilan jaringan dilakukan dengan memotong jaringan pada area kulit menggunakan gunting steril. Jaringan

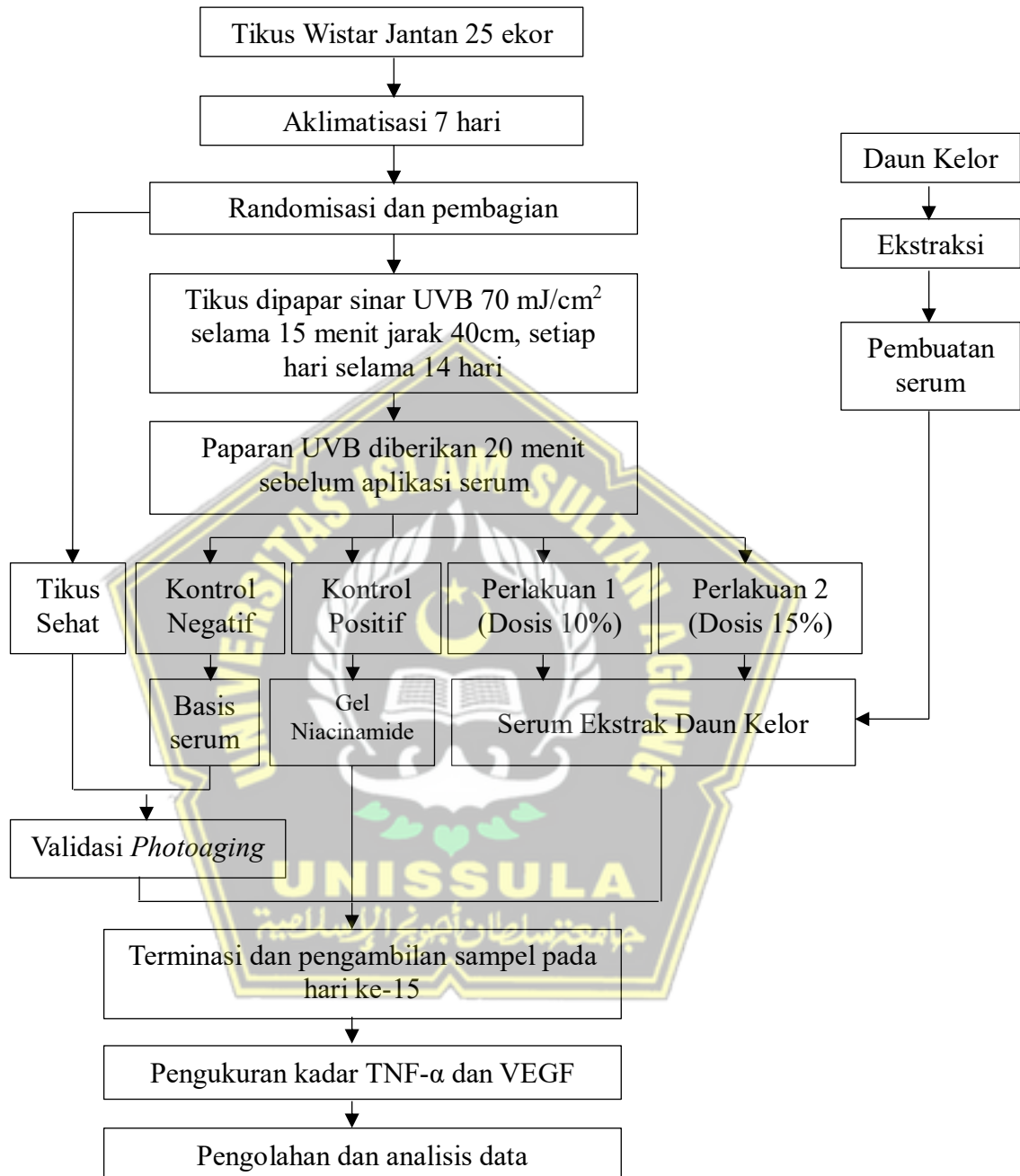
ditimbang sebanyak 1 g, dimasukkan ke dalam tabung berisi PBS (pH 7,4), dan disonifikasi selama 15 detik hingga jaringan hancur.

1. Persiapan Alat dan Bahan: Siapkan mikroplate 96-well, antibodi capture dan deteksi spesifik VEGF, standar VEGF, 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 VEGF. Tentukan konsentrasi protein menggunakan metode Bradford atau BCA.
3. Pemadatan Antibodi Capture: Tambahkan antibodi capture ke dalam sumur plate dan inkubasi selama 1-2 jam pada suhu ruang atau semalam pada suhu 4°C.
4. Pencucian Plate: Cuci plate dengan buffer pembilas sebanyak 3-4 kali untuk menghilangkan antibodi yang tidak terikat.
5. Penambahan Sampel dan Standar: Tambahkan supernatan sampel dan standar VEGF ke dalam sumur plate, lalu inkubasi selama 1-2 jam.
6. Penambahan Antibodi Deteksi: Tambahkan antibodi deteksi terkonjugasi HRP ke dalam sumur plate dan inkubasi selama 1 jam.

7. Pencucian Kembali: Cuci plate untuk menghilangkan antibodi deteksi yang tidak terikat.
8. Penambahan Substrat: Tambahkan substrat peroksidase (TMB) dan inkubasi selama 15-30 menit hingga warna terbentuk.
9. Penghentian Reaksi: Tambahkan solusi penghenti (asam sulfat) untuk menghentikan reaksi enzimatik.
10. Pembacaan Absorbansi: Ukur absorbansi pada panjang gelombang 450 nm menggunakan mikroplat reader, dan hitung kadar VEGF berdasarkan kurva standar.^{56,57}



4.6 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Alur Penelitian

4.7 Tempat dan Waktu Penelitian

Seluruh tahapan penelitian *in vivo* ini, termasuk pemaparan sinar UVB dan pemberian serum, pengambilan sampel, serta pengukuran biomarker TNF- α dan VEGF, dilaksanakan sejak Desember 2025 di Fakultas Kedokteran IBL, Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang dan Laboratorium CITO. Laboratorium ini telah memenuhi standar fasilitas untuk penelitian biomedis eksperimental dan molekuler.

4.8 Analisis Data

Data hasil penelitian diproses, dan dianalisis, kemudian dilakukan uji deskriptif. Uji normalitas data dilakukan dengan uji *Shapiro Wilk* dan uji varian data dengan uji *Levene*. Data TNF- α memiliki sebaran data normal dan varian data homogen sehingga analisis dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Sedangkan data VEGF memiliki sebaran data normal dan varian data tidak homogen sehingga analisis dilanjutkan dengan *Welch-ANOVA*. Tidak terdapat perbedaan bermakna pada kadar TNF- α maupun VEGF sehingga tidak dilakukan analisis *post hoc*. Pengolahan analisis data dilakukan dengan menggunakan SPSS *for Windows*.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh pemberian serum ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap kadar *tumor necrosis factor-alpha* (TNF- α) dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF) pada tikus Wistar yang terpapar sinar ultraviolet B (UVB). Penelitian ini merupakan studi eksperimental yang dilaksanakan selama 14 hari dengan menggunakan 30 ekor tikus Wistar jantan. Seluruh tikus menjalani masa aklimatisasi selama tujuh hari untuk menyesuaikan kondisi fisiologis dengan lingkungan laboratorium.

Setelah masa aklimatisasi, tikus dibagi secara acak ke dalam lima kelompok perlakuan. Kelompok K1 merupakan kelompok kontrol sehat yang tidak dipapar UVB dan tidak menerima perlakuan apapun. Kelompok K2 berperan sebagai kontrol negatif, dipapar sinar UVB dan diberikan basis serum. Kelompok K3 merupakan kontrol positif yang dipapar UVB dan diolesi gel niacinamide. Sementara itu, kelompok K4 dan K5 merupakan kelompok perlakuan, tikus dipapar sinar UVB dan diberikan serum ekstrak daun kelor topikal dengan konsentrasi masing-masing 10% dan 15%.

Paparan sinar UVB dilakukan setiap hari selama 15 menit dengan dosis 70 mJ/cm² pada jarak 40 cm dari kulit tikus, diberikan 20 menit sebelum aplikasi serum. Tujuan paparan ini adalah untuk menginduksi *photoaging* melalui peningkatan stres oksidatif dan respons inflamasi pada jaringan kulit, sekaligus

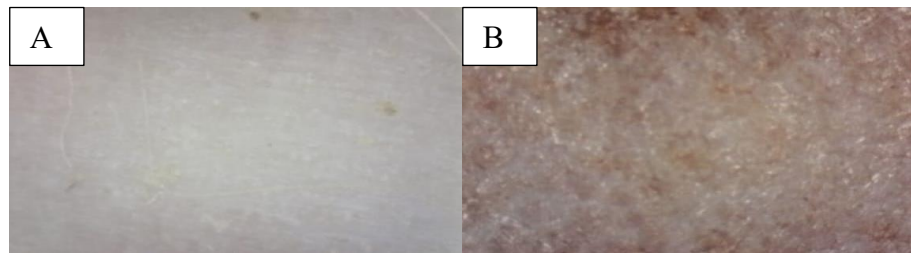
memicu perubahan ekspresi faktor pertumbuhan. Validasi efek paparan UVB dilakukan pada kelompok K1 dan K2 untuk memastikan bahwa paparan menghasilkan perubahan morfologi dan biokimia pada kulit.

Pada hari ke-15, seluruh tikus diterminasi, dan jaringan kulit dari area yang terpapar UVB diambil untuk dianalisis. Kadar TNF- α dan VEGF pada sampel jaringan kulit diukur menggunakan metode ELISA sesuai prosedur standar laboratorium.

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik untuk menilai perbedaan kadar TNF- α dan VEGF antar kelompok perlakuan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran mengenai kemampuan serum ekstrak daun kelor dalam menurunkan respons inflamasi serta memodulasi faktor pertumbuhan vaskular, sehingga menunjukkan efektivitasnya sebagai agen protektif terhadap kerusakan kulit akibat photoaging yang diinduksi sinar UVB.

5.1.1 Validasi Model *Photoaging*

Model tikus *photoaging* divalidasi secara makroskopis dan mikroskopis untuk memastikan keberhasilan induksi kerusakan kulit akibat paparan sinar UV-B. Validasi dilakukan dengan membandingkan kelompok kontrol sehat (K1) dan 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 gambaran makroskopis jaringan kulit tikus menggunakan mikroskop digital. Bagian (A) memperlihatkan kulit normal pada tikus kontrol sehat, dengan permukaan halus dan tidak terdapat perubahan struktur yang signifikan. Bagian (B) menunjukkan kulit tikus yang terpapar sinar UV-B, tampak perubahan morfologi berupa penebalan epidermis, kekasaran, dan perubahan tekstur jaringan, menandakan adanya kerusakan kulit akibat paparan UV-B.

Validasi juga dilakukan secara mikroskopis dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) pada sampel jaringan kulit untuk menilai jumlah *sunburn cells* di area dermis. Keberhasilan induksi *photoaging* dikonfirmasi ketika K2 menunjukkan perubahan histologi yang jelas dibandingkan K1. Hasil pengamatan disajikan pada Tabel 5.1, yang menggambarkan distribusi *sunburn cells* pada tiap sampel dan lapang pandang.

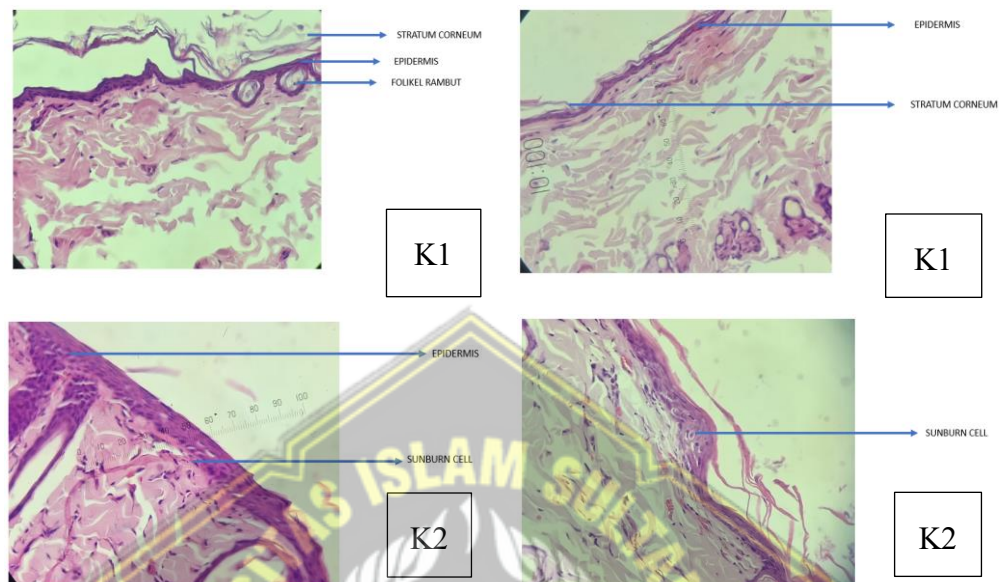
Tabel 5.1 Jumlah *Sunburn Cell* pada kulit tikus dari 5 lapang pandang per sampel.

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 Tabel 5.1, jumlah *sunburn cell* pada kelompok kontrol sehat (K1) konsisten nol di semua lapang pandang dan sampel, menunjukkan tidak adanya kerusakan kulit akibat paparan UVB. Sebaliknya, kelompok kontrol negatif (K2) menunjukkan variasi jumlah *sunburn cell* antar sampel dan lapang pandang, dengan nilai tertinggi mencapai 19 sel pada Sampel 1, lapang pandang 2. Temuan ini mengonfirmasi keberhasilan induksi kerusakan kulit oleh paparan UV-B, sehingga model *photoaging* pada tikus dianggap valid. Perbedaan distribusi antar lapang pandang menekankan heterogenitas respon jaringan terhadap paparan UV-B.

Hasil pengamatan kuantitatif diperkuat melalui evaluasi histologis jaringan kulit tikus yang ditampilkan pada Gambar 5.2. Pewarnaan *Hematoxylin–Eosin* (HE) digunakan untuk mengamati karakteristik histologis kulit secara rinci, termasuk lapisan epidermis, stratum korneum, dan keberadaan *sunburn cells*. Sel-sel tersebut diidentifikasi berdasarkan perubahan morfologi berupa pepadatan inti sel (piknosis) dan peningkatan

pewarnaan eosinofilik pada sitoplasma, yang menggambarkan terjadinya apoptosis akibat paparan sinar UV-B.



Gambar 5.2 Gambaran mikroskopis pewarnaan *Hematoxylin–Eosin* (HE): (K1) Kondisi kulit normal pada tikus; (K2) Kondisi kulit dengan paparan sinar UVB

Pada kelompok kontrol sehat (K1), jaringan kulit menunjukkan morfologi normal dengan susunan epidermis yang utuh dan teratur. Tidak ditemukan sunburn cells pada lapisan epidermis maupun dermis, termasuk pada area sekitar folikel rambut dan jaringan sekitarnya. Hasil ini selaras dengan data kuantitatif pada Tabel 5.1 yang memperlihatkan tidak adanya *sunburn cells* pada seluruh lapang pandang, sehingga mencerminkan kondisi kulit yang tidak mengalami kerusakan akibat radiasi UV-B.

Sebaliknya, pada kelompok kontrol negatif (K2) tampak perubahan histopatologis yang signifikan. Gambaran mikroskopis memperlihatkan munculnya *sunburn cells* pada lapisan epidermis, yang dicirikan oleh inti sel yang mengecil, padat, dan berwarna gelap, disertai peningkatan eosinofilia

sitoplasma. Selain itu, pada beberapa area terlihat penebalan epidermis dan perubahan struktur jaringan yang menunjukkan respons terhadap stres oksidatif dan kerusakan kulit akibat paparan UV-B. Temuan ini sejalan dengan peningkatan jumlah sunburn cells yang tercatat pada analisis kuantitatif di Tabel 5.1.

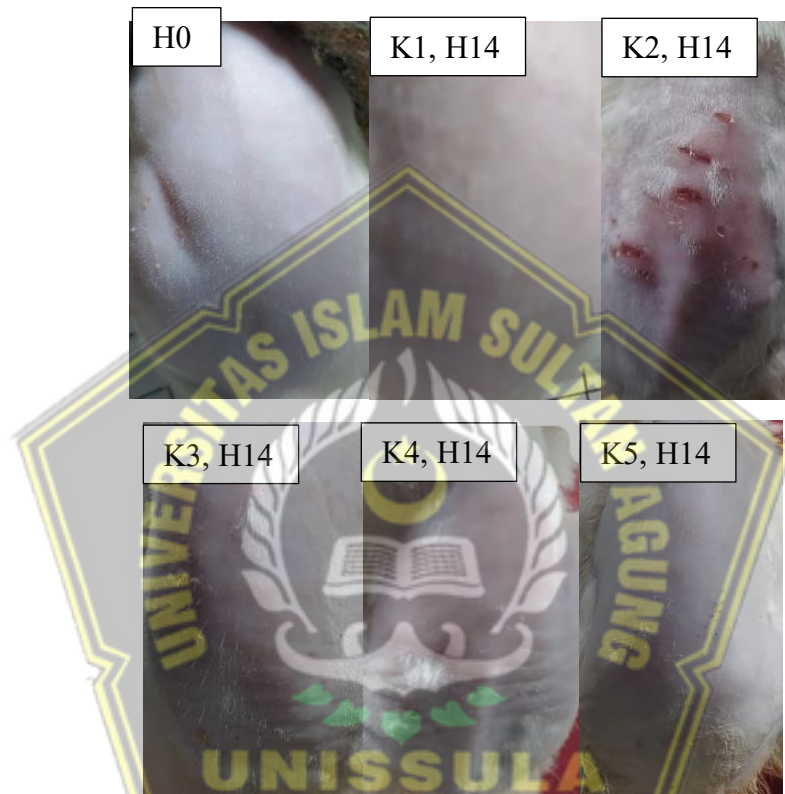
Secara umum, kesesuaian antara data kuantitatif dan temuan histologis pada Gambar 5.2 menunjukkan bahwa pewarnaan HE mampu memvalidasi keberadaan *sunburn cells* sebagai indikator kerusakan kulit akibat photoaging. Perbedaan yang nyata antara kelompok K1 dan K2 juga mengonfirmasi bahwa model induksi photoaging dalam penelitian ini berhasil diterapkan dan dapat digunakan sebagai dasar untuk analisis lanjutan.

5.1.2 Gambaran Makroskopis Model *Photoaging* Antar Kelompok

Evaluasi makroskopis dilakukan untuk menilai kondisi kulit punggung tikus Wistar jantan pada hari ke-0 (H0) sebelum perlakuan dan setelah 14 hari paparan sinar UVB dan pemberian perlakuan. Observasi mencakup seluruh kelompok penelitian, yaitu K1 (kelompok sehat), K2 (kontrol negatif), K3 (kontrol positif), K4 (serum ekstrak daun kelor 10%), dan K5 (serum ekstrak daun kelor 15%). Tujuan dari evaluasi ini adalah untuk menggambarkan perubahan morfologi kulit akibat paparan UVB, menilai konsistensi model *photoaging*, serta menilai potensi perlindungan dari perlakuan serum ekstrak daun kelor.

Pengamatan dilakukan terhadap beberapa parameter makroskopis, antara lain eritema (kemerahan kulit), kekasaran permukaan kulit,

kemunculan keriput halus (*fine wrinkles*), pengelupasan atau skuama, serta perubahan warna kulit seperti hiperpigmentasi atau tampilan kusam. Pada hari ke-0, seluruh kelompok menunjukkan kondisi kulit yang relatif seragam tanpa tanda-tanda stres oksidatif atau kerusakan.



Gambar 5.3 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 gambaran makroskopis kondisi kulit tikus Wistar pada hari ke-0 (H0) dan setelah 14 hari perlakuan serta paparan sinar UVB. Pada H0, seluruh kelompok menunjukkan kondisi kulit yang baik, halus, dan tanpa tanda-tanda kerusakan atau stres oksidatif. Setelah 14 hari, kelompok sehat (K1) tetap mempertahankan kondisi kulit yang halus dan

seragam, serupa dengan keadaan pada H0, menunjukkan bahwa tidak ada perubahan morfologi akibat perlakuan atau paparan UVB.

Sebaliknya, kelompok kontrol negatif (K2) yang terpapar UVB menampilkan tanda-tanda *photoaging* berupa kerutan yang terlihat jelas dan area punggung yang kemerahan serta terdapat beberapa luka, menandakan efek stres oksidatif dan inflamasi akibat paparan sinar UVB tanpa perlindungan. Pada kelompok kontrol positif (K3), kulit punggung relatif halus dan rata, dengan hanya sedikit kerutan halus dan tanpa kemerahan, menunjukkan bahwa gel niacinamide mampu memberikan perlindungan terbatas terhadap kerusakan kulit akibat UVB.

Pada kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 10% (K4), tidak terdapat kemerahan pada area punggung, meskipun masih terlihat sedikit kerutan halus, yang mengindikasikan bahwa meskipun serum memberikan perlindungan namun beberapa tanda stres UVB masih muncul. Sementara itu, kelompok serum ekstrak daun kelor 15% (K5) menampilkan kulit punggung yang halus, rata, dan hampir bebas kerutan halus, tanpa kemerahan, bahkan kondisi kulit terlihat lebih baik dibandingkan kelompok kontrol positif (K3). Hal ini menunjukkan potensi efek protektif serum ekstrak daun kelor 15% dalam menjaga integritas dan kesehatan kulit setelah paparan UVB.

5.1.3 Hasil Pemeriksaan Kadar TNF- α pada Jaringan Kulit

Kadar TNF- α 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 TNF- α pada jaringan kulit tikus Wistar disajikan pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Deskriptif Rata-rata Kadar TNF- α dan Uji *One Way-ANOVA*

Kelompok	Tikus Sehat (K1)	Kontrol Negatif (K2)	Kontrol Positif (K3)	Kelor 10% (K4)	Kelor 15% (K5)	<i>P</i> value
Kadar TNF-α (ng/L) (n=6)						
<i>Mean</i>	355,76	318,67	320,98	305,99	324,24	
<i>SD</i>	52,59	27,32	75,75	25,17	18,24	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,278	0,990	0,104	0,891	0,700	
<i>Levene Test</i>						0,116
<i>One Way-ANOVA</i>						0,425

Keterangan:

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

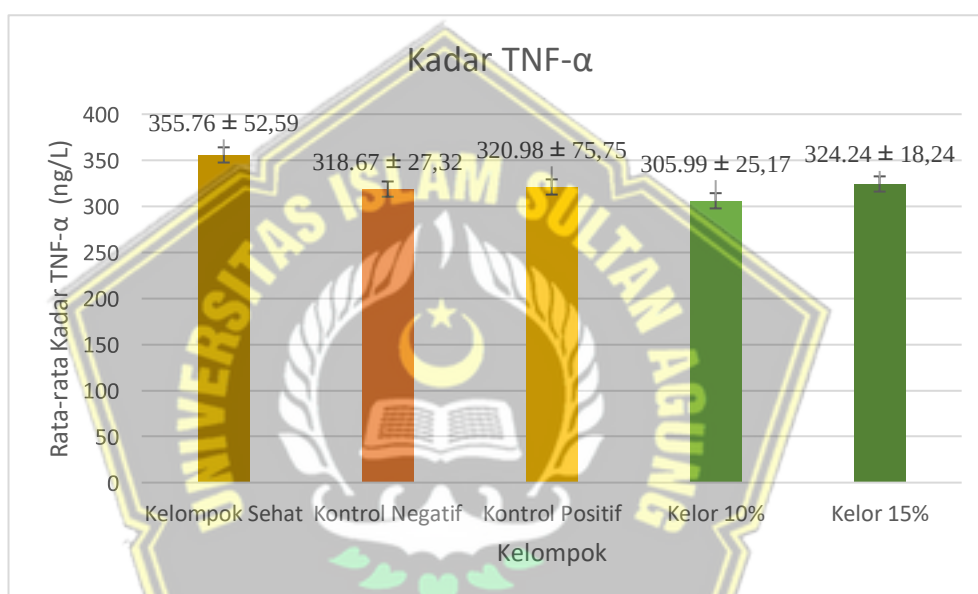
Levene Test = Data homogen ($p > 0,05$)

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

Berdasarkan Tabel 5.1, kadar TNF- α terendah terdapat pada kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 10% (K4) dengan nilai rata-rata $305,99 \pm 25,17$ ng/L, diikuti oleh kelompok kontrol negatif (K2) sebesar $318,67 \pm 27,32$ ng/L. Kelompok kontrol positif (K3) menunjukkan kadar TNF- α sebesar $320,98 \pm 75,75$ ng/L, diikuti oleh kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 15% (K5) sebesar $324,24 \pm 18,24$ ng/L. Kadar TNF- α tertinggi terdapat pada kelompok tikus sehat (K1) dengan nilai rata-rata $355,76 \pm 52,59$ ng/L.

Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa distribusi data kadar TNF- α normal pada seluruh kelompok ($p > 0,05$). Uji homogenitas varians menggunakan *Levene test* menunjukkan bahwa data bersifat homogen dengan nilai $p = 0,116$ ($p > 0,05$). Oleh karena itu, perbedaan kadar TNF- α antar kelompok dianalisis menggunakan uji parametrik *One Way-ANOVA*.

Analisis *One Way-ANOVA* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar TNF- α antar kelompok perlakuan dengan nilai $p=0,425$ ($p>0,05$). Hasil ini mengindikasikan bahwa pemberian serum ekstrak daun kelor dengan konsentrasi 10% dan 15% tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap kadar TNF- α pada jaringan kulit tikus Wistar yang dipapar sinar UVB.



Gambar 5.4 Perbandingan Kadar TNF- α antar Kelompok Perlakuan

5.1.4 Hasil Pemeriksaan Kadar VEGF pada Jaringan Kulit

Pemeriksaan kadar VEGF pada jaringan kulit tikus Wistar dilakukan pada hari ke-15 setelah perlakuan untuk menilai respons jaringan terhadap stres oksidatif dan kerusakan akibat paparan UVB serta pengaruh pemberian serum ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*). Hasil analisis deskriptif dan uji perbedaan kadar VEGF antar kelompok disajikan pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3 Deskriptif Rata-rata Kadar VEGF 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 VEGF (ng/L) (n=6)						
<i>Mean</i>	909,24	864,42	834,98	879,78	876,38	
<i>SD</i>	65,89	124,84	182,06	78,00	30,94	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,260	0,199	0,245	0,260	0,223	
<i>Levene Test</i>						0,005
<i>Welch ANOVA</i>						0,828

Keterangan:

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

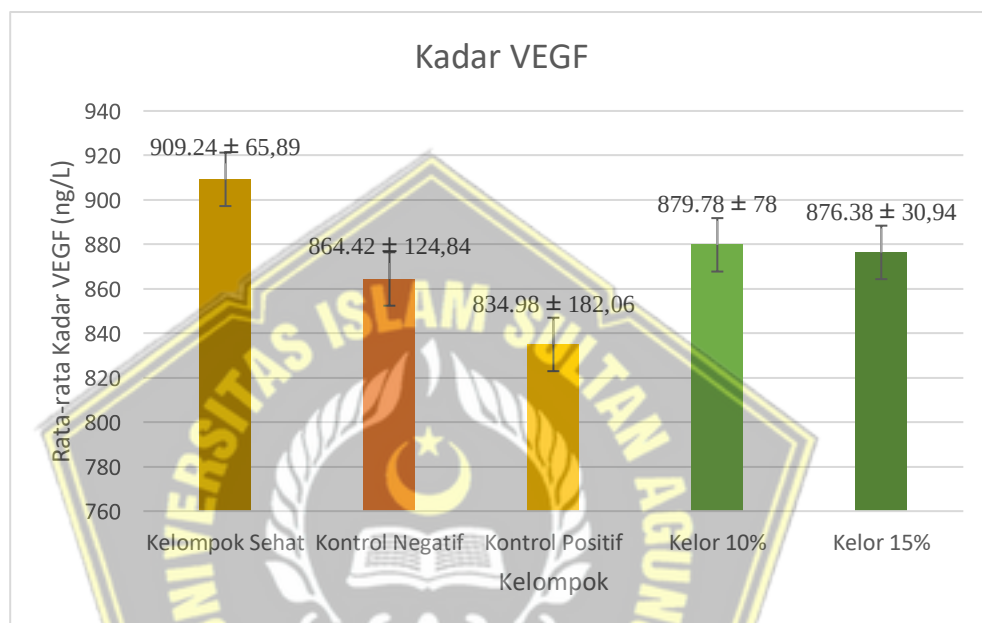
Levene Test = Data tidak homogen ($p < 0,05$)

Welch ANOVA = Tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ($p > 0,05$)

Berdasarkan Tabel 5.3, kadar VEGF terendah ditemukan pada kelompok kontrol positif (K3) dengan nilai rata-rata $834,98 \pm 182,06$ ng/L, diikuti oleh kelompok kontrol negatif (K2) sebesar $864,42 \pm 124,84$ ng/L. Kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 10% (K4) menunjukkan kadar VEGF sebesar $879,78 \pm 78,00$ ng/L, diikuti oleh kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 15% (K5) sebesar $876,38 \pm 30,94$ ng/L. Kadar VEGF tertinggi terdapat pada kelompok tikus sehat (K1) dengan nilai rata-rata $909,24 \pm 65,89$ ng/L.

Hasil uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa distribusi data kadar VEGF pada seluruh kelompok normal ($p > 0,05$). Namun, uji *Levene* menunjukkan bahwa varians antar kelompok tidak homogen ($p = 0,005$), sehingga analisis perbedaan antar kelompok dilakukan menggunakan uji nonparametrik *Welch ANOVA*. Hasil uji *Welch ANOVA* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan kadar VEGF antar kelompok perlakuan

dengan nilai $p=0,828$ ($p>0,05$). Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian serum ekstrak daun kelor dengan konsentrasi 10% dan 15% tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap kadar VEGF pada jaringan kulit tikus Wistar yang dipapar sinar UVB.



Gambar 5.5 Perbandingan Kadar VEGF antar Kelompok Perlakuan

5.2 Pembahasan

Paparan sinar ultraviolet B (UVB) diketahui dapat menimbulkan stres oksidatif dan respons inflamasi pada jaringan kulit, yang ditandai dengan peningkatan mediator proinflamasi seperti *tumor necrosis factor-alpha* (TNF- α) serta perubahan kadar faktor pertumbuhan vaskular seperti *vascular endothelial growth factor* (VEGF). Kondisi ini dapat menyebabkan kerusakan struktur kulit, gangguan regenerasi, dan proses *photoaging*.^{58,59} Daun kelor (*Moringa oleifera*) mengandung berbagai senyawa bioaktif yang dilaporkan memiliki sifat antiinflamasi dan kemampuan untuk melindungi jaringan dari

kerusakan oksidatif.⁵⁻⁷ Berdasarkan potensi tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh serum ekstrak daun kelor terhadap kadar TNF- α dan VEGF pada kulit tikus Wistar yang dipapar sinar UVB, dengan tujuan menilai efektivitasnya sebagai agen protektif terhadap inflamasi dan kerusakan jaringan kulit.

Hasil penelitian menunjukkan adanya variasi kadar TNF- α pada jaringan kulit tikus Wistar antar kelompok perlakuan. Pada kelompok tikus sehat (K1), yang tidak dipapar UVB dan tidak menerima perlakuan, kadar TNF- α tertinggi yaitu $355,76 \pm 52,59$ ng/L. Kadar tinggi ini mencerminkan kondisi fisiologis normal, di mana kulit mempertahankan ekspresi TNF- α pada tingkat basal yang membantu keseimbangan antara pertahanan terhadap patogen dan fungsi jaringan tanpa memicu inflamasi berlebihan. Peran ini mencakup modulasi fungsi sel imun, adhesi sel, dan komunikasi antarsel untuk mempertahankan integritas jaringan kulit dalam keadaan normal.⁶⁰

Pada kelompok kontrol negatif (K2), yang dipapar UVB dan hanya diberikan basis serum, kadar TNF- α menurun menjadi $318,67 \pm 27,32$ ng/L dibandingkan K1. Paparan sinar UVB umumnya akan meningkatkan atau setidaknya mempertahankan kadar TNF- α pada jaringan kulit dibandingkan kondisi normal, karena TNF- α merupakan mediator utama dalam respons kulit terhadap stres oksidatif dan kerusakan sel yang diinduksi UVB. Namun, dalam penelitian ini, kadar TNF- α pada kelompok kontrol negatif (K2) lebih rendah dibandingkan kelompok sehat (K1). Fenomena ini dapat dijelaskan melalui beberapa kemungkinan.

Pertama, waktu pengukuran sangat menentukan kadar TNF- α yang terdeteksi. TNF- α umumnya mencapai puncaknya beberapa jam setelah paparan UVB, kemudian menurun selama fase resolusi inflamasi. Karena pengukuran dilakukan pada hari ke-15, yaitu sekitar 24 jam setelah paparan terakhir, nilai yang terukur kemungkinan berada pada fase penurunan pasca-puncak.⁶¹ Kedua, paparan UVB dapat meningkatkan produksi sitokin antiinflamasi seperti IL-10, yang berfungsi menetralkan respons inflamasi dan menekan ekspresi TNF- α . Studi terbaru menjelaskan bahwa dominasi IL-10 pada fase tertentu setelah paparan UVB dapat menekan ekspresi TNF- α secara alami, sehingga kadar yang terukur lebih rendah.⁶² Selain itu, paparan UVB repetitif jangka panjang juga dapat memengaruhi infiltrasi sel inflamasi dan menimbulkan efek penurunan atau blokade TNF- α secara sistemik. Respons inflamasi kronis terhadap paparan UV dapat memicu mekanisme adaptif jaringan sehingga ekspresi TNF- α menurun pada fase tertentu.⁶³

Pada kelompok kontrol positif (K3), yang dipaparkan UVB dan diolesi gel niacinamide, kadar TNF- α tercatat sebesar $320,98 \pm 75,75$ ng/L. Nilai ini sedikit lebih tinggi dibandingkan K2, tetapi tetap lebih rendah dibanding K1. Hal ini menunjukkan bahwa gel niacinamide, meskipun memiliki sifat antiinflamasi, dalam kondisi penelitian ini tidak mampu menurunkan TNF- α secara signifikan. Respons jaringan terhadap niacinamide kemungkinan terbatas pada pengurangan stres oksidatif, sehingga ekspresi TNF- α tidak banyak berubah dibandingkan kelompok kontrol negatif.⁶⁴

Pada kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 10% (K4), kadar TNF- α tercatat $305,99 \pm 25,17$ ng/L, lebih rendah dibanding kelompok kontrol negatif (K2). Penurunan ini menunjukkan adanya efek antiinflamasi dari serum ekstrak daun kelor pada konsentrasi 10%, yang mampu menekan pelepasan mediator inflamasi akibat paparan UVB. Senyawa bioaktif dalam daun kelor, seperti flavonoid dan polifenol, kemungkinan berperan dalam menghambat jalur proinflamasi dan menetralkan radikal bebas, sehingga respons inflamasi kulit dapat ditekan lebih efektif dibandingkan kulit yang hanya dipapar UVB tanpa perlakuan aktif.^{9,26,27}

Pada kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 15% (K5), kadar TNF- α sebesar $324,24 \pm 18,24$ ng/L, sedikit lebih tinggi dibanding K4 dan K3, namun tetap lebih rendah daripada K1. Hasil ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi serum tidak selalu diikuti oleh penurunan TNF- α yang lebih besar, kemungkinan karena mekanisme regulasi balik jaringan kulit yang menjaga homeostasis sitokin inflamasi. Fenomena ini sejalan dengan temuan terbaru yang menunjukkan bahwa paparan UV repetitif jangka panjang dan intervensi antiinflamasi dapat memicu adaptasi jaringan sehingga ekspresi TNF- α mengalami penyesuaian untuk menjaga keseimbangan imun kulit, dan efek penurunan sitokin tidak selalu meningkat secara linear dengan peningkatan dosis bioaktif.⁶⁵

Secara keseluruhan, perbandingan antar kelompok menunjukkan tren penurunan TNF- α pada kelompok yang diberi serum ekstrak daun kelor, terutama pada konsentrasi 10%. Hal ini menegaskan potensi efek antiinflamasi

dari ekstrak daun kelor dalam menekan respons inflamasi yang diinduksi paparan sinar UVB. Meskipun tidak signifikan secara statistik, hasil ini konsisten dengan mekanisme biologis di mana senyawa bioaktif pada daun kelor mampu menekan jalur proinflamasi dan menghambat pelepasan sitokin termasuk $\text{TNF-}\alpha$, serta menunjukkan bahwa dosis optimum tidak selalu meningkat seiring konsentrasi serum.⁶⁶ Dengan demikian, serum ekstrak daun kelor berpotensi berfungsi sebagai agen protektif terhadap inflamasi kulit akibat *photoaging*.

Selain memengaruhi mediator inflamasi, paparan UVB dan perlakuan serum ekstrak daun kelor juga dapat berdampak pada faktor pertumbuhan vaskular, sehingga analisis VEGF penting dilakukan untuk menilai efek perlakuan terhadap proses regenerasi dan angiogenesis kulit. Hasil penelitian menunjukkan variasi kadar VEGF pada jaringan kulit tikus Wistar antar kelompok perlakuan. Pada kelompok tikus sehat (K1), yang tidak dipapar UVB dan tidak menerima perlakuan, kadar VEGF tertinggi yaitu $909,24 \pm 65,89$ ng/L. VEGF merupakan mediator angiogenesis fisiologis yang berperan penting dalam proliferasi dan survival sel endotel, menjaga homeostasis vaskular dan mendukung regenerasi jaringan kulit, sehingga kadar VEGF yang lebih tinggi pada kulit sehat merefleksikan fungsi fisiologis normalnya dalam angiogenesis dan perbaikan jaringan. Kondisi ini menunjukkan bahwa tanpa adanya stres oksidatif atau kerusakan jaringan, sel endotel dan fibroblas kulit dapat mempertahankan produksi VEGF untuk mendukung fungsi regeneratif kulit secara optimal.⁶⁷

Pada kelompok kontrol negatif (K2), yang dipapar UVB dan hanya diberikan basis serum, kadar VEGF menurun menjadi $864,42 \pm 124,84$ ng/L. Penurunan ini dapat dijelaskan oleh efek paparan UVB yang meningkatkan produksi radikal bebas dan stres oksidatif, sehingga menekan jalur ekspresi VEGF pada sel endotel dan jaringan dermis. Kulit yang mengalami paparan UVB mengalami gangguan fungsi sel endotel dan dermis akibat akumulasi ROS dapat menyebabkan penurunan ekspresi VEGF sebagai respons adaptif terhadap kerusakan jaringan, sehingga regenerasi angiogenesis menjadi kurang optimal.⁶⁸

Pada kelompok kontrol positif (K3), yang dipapar UVB dan diolesi gel niacinamide, kadar VEGF tercatat lebih rendah yaitu $834,98 \pm 182,06$ ng/L. Penurunan ini menunjukkan bahwa gel niacinamide dalam kondisi penelitian ini tidak mampu meningkatkan ekspresi VEGF secara signifikan. Secara mekanistik, niacinamide dikenal memiliki sifat anti-inflamasi dan perlindungan seluler terhadap stres oksidatif, tetapi tidak secara khusus merangsang jalur angiogenesis yang memicu ekspresi VEGF. Niacinamide bekerja terutama melalui modulasi stres oksidatif dan perbaikan fungsi barier kulit, misalnya dengan memperkuat sintesis lipid epidermal dan mengurangi peradangan, tanpa secara langsung mengaktivasi faktor pertumbuhan angiogenik seperti VEGF. Studi kajian terbaru juga menyatakan bahwa belum terdapat bukti kuat yang menunjukkan bahwa penggunaan niacinamide topikal secara langsung meningkatkan ekspresi faktor pertumbuhan seperti VEGF, melainkan lebih

berfungsi dalam mempertahankan homeostasis seluler dan menekan respon inflamasi secara umum.⁶⁹

Pada kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 10% (K4), kadar VEGF meningkat menjadi $879,78 \pm 78,00$ ng/L, lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif (K2) maupun kelompok kontrol positif (K3). Peningkatan ini menunjukkan bahwa serum ekstrak daun kelor memberikan efek protektif terhadap sel endotel dan jaringan kulit yang mengalami stres akibat UVB. Senyawa bioaktif seperti flavonoid dan polifenol dalam daun kelor kemungkinan berperan dalam menetralkan radikal bebas, mengurangi stres oksidatif, dan mempertahankan ekspresi VEGF.⁷⁰ Dengan demikian, perbandingan ini menegaskan bahwa pemberian serum ekstrak daun kelor mampu mendukung angiogenesis dan proses perbaikan jaringan lebih baik dibanding kulit yang hanya mengalami paparan UVB tanpa perlakuan aktif maupun dengan perlakuan niacinamide gel.

Pada kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 15% (K5), kadar VEGF sebesar $876,38 \pm 30,94$ ng/L, sedikit lebih rendah dibanding K4, namun tetap lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi serum tidak selalu meningkatkan ekspresi VEGF secara linier, kemungkinan karena mekanisme regulasi balik jaringan kulit yang mempertahankan homeostasis faktor pertumbuhan. Meskipun demikian, serum ekstrak daun kelor tetap menunjukkan potensi untuk mempertahankan kadar VEGF mendekati kondisi fisiologis normal pada kulit yang dipapar UVB.⁶⁶

Secara keseluruhan, meskipun perbedaan kadar VEGF antar kelompok tidak signifikan secara statistik, data menunjukkan tren bahwa serum ekstrak daun kelor dapat meningkatkan ekspresi VEGF, mendukung kemampuan regeneratif dan angiogenesis kulit setelah paparan UVB. Hal ini menunjukkan efek protektif senyawa bioaktif daun kelor terhadap kerusakan jaringan akibat stres oksidatif.⁷⁰ Kenaikan VEGF pada kelompok perlakuan relatif terbatas karena mekanisme regulasi internal kulit menjaga keseimbangan angiogenesis, sementara paparan UVB cenderung menekan ekspresi VEGF, dan variasi respons individu turut berkontribusi pada tidak adanya perbedaan signifikan antar kelompok.²¹

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan untuk penelitian selanjutnya. Pertama, durasi perlakuan selama 14 hari mungkin belum cukup untuk menghasilkan perubahan kadar TNF- α dan VEGF yang signifikan, mengingat efek senyawa bioaktif pada daun kelor terhadap jalur inflamasi dan angiogenesis dapat memerlukan paparan lebih lama atau pengulangan aplikasi yang lebih intensif.^{61,71} Kedua, jumlah sampel yang relatif terbatas (n=6 per kelompok) dapat menyebabkan variabilitas data yang tinggi, sehingga mempengaruhi kemampuan uji statistik untuk mendeteksi perbedaan signifikan antar kelompok.⁷²

Ketiga, variabilitas individu dalam respons terhadap paparan UVB dan penyerapan serum ekstrak daun kelor dapat menimbulkan fluktuasi data yang cukup besar, sehingga mengurangi sensitivitas analisis statistik. Faktor lingkungan seperti intensitas UVB, jarak pemaparan, dan kontrol kelembapan

kulit juga dapat memengaruhi hasil.^{73,74} Beberapa perbaikan yang dapat dilakukan untuk penelitian selanjutnya antara lain memperpanjang durasi perlakuan dan frekuensi aplikasi serum, menambah jumlah sampel per kelompok untuk meningkatkan kekuatan uji statistik, serta standarisasi kondisi lingkungan yang lebih ketat. Perbaikan ini diharapkan dapat memberikan gambaran yang lebih komprehensif mengenai efek serum ekstrak daun kelor terhadap inflamasi dan regenerasi kulit akibat paparan UVB.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Pemberian serum ekstrak *Moringa oleifera* tidak berpengaruh signifikan terhadap kadar TNF- α dan VEGF pada kulit tikus Wistar yang terpapar UVB.
2. Kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 10% (K4) menunjukkan kadar TNF- α terendah ($305,99 \pm 25,17$ ng/L), lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol negatif (K2) yang hanya dipapar UVB dan diberi basis krim ($318,67 \pm 27,32$ ng/L). Sedangkan kelompok perlakuan serum ekstrak daun kelor 15% (K5) memiliki kadar TNF- α sebesar $324,24 \pm 18,24$ ng/L, sedikit lebih tinggi dibanding K4 maupun K2, meskipun perbedaan antar kelompok tidak signifikan secara statistik.
3. Pemberian serum ekstrak daun kelor 10% (K4) dan serum ekstrak daun kelor 15% (K5) menunjukkan peningkatan kadar VEGF dibanding kelompok kontrol negatif (K2), yaitu masing-masing sebesar $879,78 \pm 78,00$ ng/L dan $876,38 \pm 30,94$ ng/L, meskipun perbedaan antar kelompok tidak signifikan secara statistik.
4. Pemberian serum ekstrak daun kelor 10% menunjukkan efek yang lebih optimal dalam memodulasi kadar TNF- α dan VEGF pada kulit tikus Wistar yang dipapar UVB dibandingkan dosis 15%. Pada TNF- α , dosis 10% menurunkan kadar mediator inflamasi lebih efektif dibanding 15%,

menunjukkan potensi antiinflamasi yang lebih baik. Sedangkan pada VEGF, dosis 10% juga memberikan peningkatan kadar yang sedikit lebih tinggi dibanding 15%, menandakan dukungan yang lebih baik terhadap angiogenesis dan regenerasi jaringan.

6.2 Saran

1. Memperpanjang durasi perlakuan dan meningkatkan frekuensi aplikasi serum agar efek senyawa bioaktif daun kelor terhadap jalur inflamasi dan angiogenesis lebih maksimal dan dapat terdeteksi secara signifikan.
2. Menambah jumlah sampel per kelompok untuk mengurangi variabilitas individu dan meningkatkan sensitivitas serta kekuatan uji statistik.
3. Memperketat pengawasan dan standarisasi kondisi lingkungan penelitian, seperti intensitas UVB, jarak pemaparan, dan kelembapan kulit, agar variasi faktor eksternal dapat lebih diminimalkan dan hasil penelitian menjadi lebih konsisten.

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. Zhang Z, Zhu H, Zheng Y, Zhang L, Wang X, Luo Z, et al. The effects and mechanism of collagen peptide and elastin peptide on skin aging induced by D-galactose combined with ultraviolet radiation. *J Photochem Photobiol B*. 2020 Sep;210:111964.
3. Merin K, Shaji M, Kameswaran R. A Review on Sun Exposure and Skin Diseases. *Indian J Dermatol*. 2022 Sep;67(5):625.
4. Wikassa T, Damayanti D, Irwadi I, Setyaningrum T, Rahmadewi R, Indramaya DM, et al. Skin Aging Profile in Tertiary Hospital: a Descriptive Study. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin*. 2022 Mar 30;34(1):36–45.
5. Wu YY, Xu YM, Lau ATY. Anti-cancer and medicinal potentials of moringa isothiocyanate. Vol. 26, *Molecules*. MDPI; 2021.
6. 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.
7. 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.
8. Hengpratom T, Dunkhunthod B, Sirichaiwetchakoon K, Prompradit P, Chaisit I, Ketudat-Cairns M, et al. *Moringa oleifera* Leaf Extract Ameliorates Photooxidative Damage and Photoaging Induced by Ultraviolet-B in HaCaT Keratinocytes. *Antioxidants*. 2025 Jun 22;14(7):766.
9. Verma AR, Vijayakumar M, Mathela CS, Rao C V. In vitro and in vivo antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. *Food and Chemical Toxicology*. 2009 Sep;47(9):2196–201.
10. Kumagai CM, Martinez RM, Colombo BB, Saito P, Pinto IC, Rodrigues CCA, et al. Topical Administration of 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -Prostaglandin J2 Using a Nonionic Cream: Effect on UVB-Induced Skin Oxidative, Inflammatory, and Histopathological Modifications in Mice. *Mediators Inflamm*. 2021;2021.
11. Fadhilah A. Uji Efektivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Pada Tikus Jantan Galur Wistar. *Usadha: Journal of Pharmacy* [Internet]. 2024;3(1). Available from: <https://jsr.lib.ums.ac.id/index.php/ujp>

12. 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).
13. 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).
14. Wulan H, Pirnama Widagdo D, Aulia C. Potensi Ekstrak Etanol Daun Kelor sebagai Antiinflamasi, Penetapan Kadar Flavanoid Total. *Media Farmasi Indonesia*. 2021 Oct 30;16(2):1693–7.
15. 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.
16. 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.
17. Pouta Mahdavi Sharif, Parnian Jabbari, Sepideh Razi, Mahsa Keshavars-Fathi, Nima Rezaei. Importance of TNF-alpha and its alterations in the development of cancers. *Cytokine* [Internet]. 2020 Jun [cited 2025 Jul 2];130. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S104346662030082X?via%3Dihub>
18. Josephs SF, Ichim TE, Prince SM, Kesari S, Marincola FM, Escobedo AR, et al. Unleashing endogenous TNF-alpha as a cancer immunotherapeutic. Vol. 16, *Journal of Translational Medicine*. BioMed Central Ltd.; 2018.
19. Idriss HT, Naismith JH. TNF α and the TNF receptor superfamily: Structure-function relationship(s). *Microsc Res Tech*. 2000 Aug 1;50(3):184–95.
20. Lee KJ, Park KH, Hahn JH. Alleviation of ultraviolet-B radiation-induced photoaging by a TNFR antagonist peptide, TNFR2-SKE. *Mol Cells*. 2019;42(2):151–60.
21. Broussy S. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and VEGF Receptor Inhibitors in Health and Disease. *Pharmaceuticals*. 2024;17(7):13–5.
22. Keren A, Bertolini M, Keren Y, Ullmann Y, Paus R, Gilhar A. H E A L T H A N D M E D I C I N E Human organ rejuvenation by VEGF-A: Lessons from the skin. Vol. 8, *Sci. Adv*. 2022.
23. Chen S, He Z, Xu J. Application of adipose-derived stem cells in photoaging: basic science and literature review. Vol. 11, *Stem Cell Research and Therapy*. BioMed Central Ltd; 2020.
24. Hu X, Chen M, Nawaz J, Duan X. Regulatory Mechanisms of Natural Active Ingredients and Compounds on Keratinocytes and Fibroblasts in Mitigating

- Skin Photoaging. Vol. 17, Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology . Dove Medical Press Ltd; 2024. p. 1943–62.
25. Liu J, Zhao L, Xing X, Zhang Y, Ji B, Zhou F. The effects and mechanism of collagen peptide and elastin peptide on photoaging of skin cells induced by ultraviolet radiation. Food Biosci [Internet]. 2025 Jun [cited 2025 Jul 2];68. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2212429225005814>
 26. Pop OL, Kerezsi AD, Ciont (Nagy) C. A Comprehensive Review of Moringa oleifera Bioactive Compounds—Cytotoxicity Evaluation and Their Encapsulation. Foods. 2022 Nov 24;11(23):3787.
 27. Anzano A, Ammar M, Papaiani M, Grauso L, Sabbah M, Capparelli R, et al. Moringa oleifera Lam.: A Phytochemical and Pharmacological Overview. Horticulturae. 2021 Oct 16;7(10):409.
 28. Sultana S. Nutritional and functional properties of Moringa oleifera. Metabol Open. 2020 Dec;8:100061.
 29. Adekanmi AA, Adekanmi SA, Shafiu Adekanmi O. Qualitative and Quantitative Phytochemical Constituents of Moringa Leaf. International Journal of Engineering and Information Systems (IJEAIS). 2020;4(5):10–7.
 30. Ferreira R dos S, Mendonça LABM, Santos C dos, Hiane PA, Matias R, Franco OL, et al. Do Bioactive Food Compound with Avena sativa L., Linum usitatissimum L. and Glycine max L. Supplementation with Moringa oleifera Lam. Have a Role against Nutritional Disorders? An Overview of the In Vitro and In Vivo Evidence. Nutrients. 2021 Jul 2;13(7):2294.
 31. Bangar A, Khan H, Kaur A, Dua K, Singh TG. Understanding mechanistic aspect of the therapeutic role of herbal agents on neuroplasticity in cerebral ischemic-reperfusion injury. Journal of Ethnopharmacology. 2024 Jan 30;319(2).
 32. 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).
 33. 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.
 34. 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.
 35. 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).

36. 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.
37. Gupta SK, Kumar B, B P Srinivasan, Nag TC, Srivastava S, Saxena R, et al. Retinoprotective effects of *Moringa oleifera* via antioxidant, anti-inflammatory, and anti-angiogenic mechanisms in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2013 May;29(4):419–26.
38. Al-Ghanayem AA, Alhussaini MS, Asad M, Joseph B. *Moringa oleifera* Leaf Extract Promotes Healing of Infected Wounds in Diabetic Rats: Evidence of Antimicrobial, Antioxidant and Proliferative Properties. *Pharmaceuticals*. 2022 May 1;15(5).
39. Syahputri V, Budhy T, Arundina I, Budhy TI, Dwi M, Surboyo C. Potential of *Moringa oleifera* Leaf Extract on IL-8 Expression in Benzo(a)pyrene-Induced-Oral Cancer of *Rattus norvegicus* [Internet]. Vol. 19, *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences*. 2023. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/370059667>
40. Listiani YP, Ayuwardani N, Erikania S, Kunci K, Kelor D, Subkronis T, et al. Subchronic Toxicity Of *Moringa* Leaf Extract (*Moringa Oleivera* L) On Histopathology Heart Organ Of Rats Toksisitas Subkronis Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleivera* L) terhadap Histopatologi Organ Hati Tikus [Internet]. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology Journal Homepage*. 2023. Available from: <http://jurnal.unpad.ac.id/ijpst/>
41. 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.
42. Kaltchenko MV, Chien AL. Photoaging: Current Concepts on Molecular Mechanisms, Prevention, and Treatment(Review). *Am J Clin Dermatol*. 2025 May;26(3):321–44.
43. 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>
44. Gui Q, Ding N, Yao Z, Wu M, Fu R, Wang Y, et al. Extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells: the wine in Hebe's hands to treat skin aging. *Precis Clin Med*. 2024 Jan 8;7(1).
45. Brar G, Dhaliwal A, Brar AS, Sreedevi M, Ahmadi Y, Irfan M, et al. A Comprehensive Review of the Role of UV Radiation in Photoaging Processes Between Different Types of Skin. *Cureus* [Internet]. 2025 Mar 24; Available from: <https://www.cureus.com/articles/341779-a-comprehensive-review-of-the-role-of-uv-radiation-in-photoaging-processes-between-different-types-of-skin>

46. 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.
47. 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>
48. Yanuar F. Evaluating the difference of skin elasticity value on the use of 3% superoxide dismutase cream and 10% urea. Vol. 31, *Journal of Pakistan Association of Dermatologists*. 2021.
49. Skin Cancer Foundation. Photoaging: Apa yang Perlu Anda Ketahui Tentang Jenis Penuaan Lainnya [Internet]. Skin Cancer Foundation. 2019 [cited 2025 Sep 19]. Available from: <https://www.skincancer.org/id/blog/photoaging-what-you-need-to-know/>
50. Gromkowska-Kępa 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.
51. Zaetun S, Budi L, Dewi K, Bagus I, Wiadnya R, Srigede L, et al. Profil Kadar MDA (Malondialdehyde) Sebagai Penanda Kerusakan Seluler Akibat Radikal Bebas pada Tikus yang Diberikan Air Beroksigen. *Jurnal Analis Medika Bio Sains*. 2017;4(2):63–8.
52. Ahmad Z. Penuaan Kulit: Patofisiologi dan Manifestasi Klinis (Skin Aging: Pathophysiology and Clinical Manifestation). *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin*. 2018 Dec;30(3).
53. Yusharyahya SN. Mekanisme Penuaan Kulit sebagai Dasar Pencegahan dan Pengobatan Kulit Menua. *eJournal Kedokteran Indonesia*. 2021 Sep 1;9(2):150.
54. 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.
55. 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.
56. Saini DK, Devaramani MS, Shanmugavel H, Tabassum SZ, Mudnakudu-Nagaraju KK, Siddesha JM, et al. Development and validation of a recombinant human TNF- α based ELISA to detect and quantify adalimumab. *Biochem Biophys Rep*. 2025 Jun 1;42.
57. Rendeovski V, Aleksovski B, Stojanov D, Mihajlovska-Rendevska A, Aleksovski V, Baneva-Dolnenec N, et al. Validation of the ELISA method for quantitative detection of TNF- α in patients with intracerebral hemorrhage. *Open Access Maced J Med Sci*. 2017 Oct 15;5(6):703–7.

58. Ansary TM, Hossain MdR, Kamiya K, Komine M, Ohtsuki M. Inflammatory Molecules Associated with Ultraviolet Radiation-Mediated Skin Aging. *Int J Mol Sci.* 2021 Apr 12;22(8):3974.
59. Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Photoaging: UV radiation-induced inflammation and immunosuppression accelerate the aging process in the skin. Vol. 71, *Inflammation Research*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2022. p. 817–31.
60. Pocino K, Carnazzo V, Stefanile A, Basile V, Guerriero C, Marino M, et al. Tumor Necrosis Factor-Alpha: Ally and Enemy in Protean Cutaneous Sceneries. *Int J Mol Sci.* 2024 Jul 16;25(14):7762.
61. Chiewchengchol D, Wright HL, Thomas HB, Lam CW, Roberts KJ, Hirankarn N, et al. Differential changes in gene expression in human neutrophils following TNF- α stimulation: Up-regulation of anti-apoptotic proteins and down-regulation of proteins involved in death receptor signaling. *Immun Inflamm Dis.* 2016 Mar;4(1):35–44.
62. Rahman AS, Budhy TI, Nugraha J, Fadhilah NL. The Effect Of Astaxanthin On Tumor Necrosis Factor Alpha (Tnf- α) And Interleukin 10 (Il-10) Expression In Uv-B-Induced Rats Model. *Folia Medica Indonesiana.* 2025;61(1).
63. Kim HJ, Langenhan JL, Robinson ES, Privette E, Achtman JC, Mitrani RA, et al. Effect of long-term treatment with tumour necrosis factor- α inhibitors on single-dose ultraviolet-induced changes in human skin. *British Journal of Dermatology.* 2017 Dec;177(6):1762–4.
64. Marques C, Hadjab F, Porcello A, Lourenço K, Scaletta C, Abdel-Sayed P, et al. Mechanistic Insights into the Multiple Functions of Niacinamide: Therapeutic Implications and Cosmeceutical Applications in Functional Skincare Products. *Antioxidants.* 2024 Mar 30;13(4):425.
65. Ishijima T, Nakajima K. Inflammatory cytokines TNF α , IL-1 β , and IL-6 are induced in endotoxin- stimulated microglia through different signaling cascades. *Sci Prog.* 2021 Oct 25;104(4).
66. Chiş A, Noubissi PA, Pop OL, Mureşan CI, Fokam Tagne MA, Kamgang R, et al. Bioactive Compounds in *Moringa oleifera*: Mechanisms of Action, Focus on Their Anti-Inflammatory Properties. *Plants.* 2023 Dec 20;13(1):20.
67. Thompson MB, Tirupattur SP, Vishwakarma N, Katwa LC. Essential Pieces of the Puzzle: The Roles of VEGF and Dopamine in Aging. *Cells.* 2025 Jul 31;14(15):1178.
68. Liu HM, Cheng MY, Xun MH, Zhao ZW, Zhang Y, Tang W, et al. Possible Mechanisms of Oxidative Stress-Induced Skin Cellular Senescence, Inflammation, and Cancer and the Therapeutic Potential of Plant Polyphenols. *Int J Mol Sci.* 2023 Feb 13;24(4):3755.

69. Koshy RR, Mirza W, Raziya F, Mirza Riyaz Baig R, Joseph JR, Rose Tom D. Niacinamide efficacy in skin therapy: The multitasking marvel for glowing skin – A comprehensive literature review. *Cosmoderma*. 2026 Jan 10;6:3.
70. Amalia EW, Chiuman L, Fachrial E. Therapeutic Potential of Moringa oleifera Leaf Cream in Promoting Wound Healing Through VEGF and Collagen Modulation in Burn Injury. In 2025. p. 247–58.
71. Raudenbush SW, Liu XF. Effects of study duration, frequency of observation, and sample size on power in studies of group differences in polynomial change. *Psychol Methods*. 2001;6(4):387–401.
72. 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.
73. Anagnostou VK, Welsh AW, Giltane JM, Siddiqui S, Lioeaga C, Gustavson M, et al. Analytic variability in immunohistochemistry biomarker studies. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*. 2010 Apr;19(4):982–91.
74. Higdon R. Experimental Design, Variability. In: *Encyclopedia of Systems Biology*. New York, NY: Springer New York; 2013. p. 704–5.

