



**EFEK KRIM EKSTRAK DAUN *Physalis angulata* L.  
TERHADAP KEPADATAN KOLAGEN KULIT *Rattus  
norvegicus* YANG DIINDUKSI RADIASI ULTRAVIOLET-B**

**KARYA AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan**

**Memperoleh Gelar Dokter Spesialis Dermatologi dan Venereologi**



Oleh:

**Ahmad Bayu Ajie**

**188071401111004**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS  
DERMATOLOGI DAN VENEREOLOGI**

**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**RUMAH SAKIT UMUM DAERAH Dr. SAIFUL ANWAR**

**MALANG**

**2021**



**EFEK KRIM EKSTRAK DAUN *Physalis angulata* L.  
TERHADAP KEPADATAN KOLAGEN KULIT *Rattus  
norvegicus* YANG DIINDUKSI RADIASI ULTRAVIOLET-B**

**KARYA AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan**

**Memperoleh Gelar Dokter Spesialis Dermatologi dan Venereologi**



Oleh:

**Ahmad Bayu Ajie**

**188071401111004**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS  
DERMATOLOGI DAN VENEREOLOGI**

**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**RUMAH SAKIT UMUM DAERAH Dr. SAIFUL ANWAR**

**MALANG**

**2021**



**HALAMAN PERSETUJUAN**

**KARYA AKHIR**

**EFEK KIRIM EKSTRAK DAUN *Physalis angulata*  
TERHADAP KEPADATAN KOLAGEN KULIT *Rattus*  
*norvegicus* YANG DIINDUKSI RADIASI ULTRAVIOLET-B**

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Dokter Spesialis Dermatologi dan Venereologi

Oleh :

**Ahmad Bayu Aje**

**18807140111104**

Menyetujui untuk diuji

Pembimbing I

**dr. Herwinda Brahmati, MSc Sp.KK(K)**

**NIP. 201101801007 2 001**

Pembimbing II

**dr. Suci Prawitasari, Sp.KK**

**NIP. 19831229 201903 2 005**



**HALAMAN PENGESAHAN  
KARYA AKHIR**

**EFEK KRIM EKSTRAK DAUN *Physalis angulata* TERHADAP  
KEPADATAN KOLAGEN KULIT *Rattus norvegicus* YANG DIINDUKSI  
RADIASI ULTRAVIOLET-B**

Oleh :  
**Ahmad Bayu Ajie**  
18807140111104  
Telah diuji pada :  
16 Desember 2021

Dinyatakan Lulus oleh :  
**Pembimbing I/ Penguji I**

dr. Herwinda Brahmati, MSc Sp.KK(K)  
NIP: 201101 801007 2 001

Penguji II

Dr. dr. Sinta Murlistyarni Sp.KK (K)  
NIP. 19811210 201212 2 001

Penguji III

dr. Arif Widiatmoko Sp.KK (K)  
NIP. 19780428 200912 1 005

**Mengetahui**  
**Ketua program Studi**  
**Pendidikan Dokter Spesialis**  
**Dermatologi dan Venereologi**

dr. Sinta Murlistyarni Sp.KK (K)  
NIP. 19811210 201212 2 001



## HALAMAN PENGESAHAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya menyatakan yang sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah Karya Akhir ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka. Apabila ternyata di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa di dalam Karya Akhir ini terdapat unsur-unsur plagiasi maka saya bersedia menerima sanksi dan diproses sesuai peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Malang, 16 Desember 2021

Nama : Ahmad Bayu Aije

NIM : 188071401111004

PS : Dermatologi dan Venereologi

Prog. : Pendidikan Dokter Spesialis

Fak. : Kedokteran UB





## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan segala berkah dan karunia-Nya yang tak terhingga sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Akhir ini sesuai harapan. Penulis menyadari bahwa Karya Akhir ini tidak mungkin terselesaikan tanpa adanya dukungan dari berbagai pihak. Dengan segala kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

- dr. Herwinda Brahmanti, MSc. Sp.KK(K) dan dr. Suci Prawitasari, Sp.KK selaku Pembimbing I dan Pembimbing II Karya Akhir ini yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan masukan sejak awal hingga akhir penelitian serta penyusunan Karya Akhir ini.
- Dr. dr. Sinta Murlistyarini Sp.KK (K), dr. Arif Widiatmoko, Sp.KK (K), dan dr. Harun Al Rasyid, MPH sebagai tim penguji yang telah berkenan memberikan masukan dan koreksi yang bermanfaat untuk perbaikan Karya Akhir ini.
- Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Dr. dr. Sinta Murlistyarini, Sp.KK (K) yang selalu memberikan motivasi, semangat, kesempatan, dan nasihat selama masa pendidikan saya.
- Kepala Departemen Dermatologi dan Venereologi RSUD dr. Saiful Anwar Malang dr. Aunur Rofiq, Sp.KK (K) atas kesempatan serta nasihat dan dukungan yang selalu diberikan selama penulis menjalani program pendidikan dokter spesialis ini.
- Terima kasih kepada Ibuku Binarni, Istriku Rosari Mahiron Damayanti, anak-anakku Ratu Alisha Najiha Ajie dan Khalif Ali Sastra Ajie atas segala doa, dukungan moral dan material, waktu, tenaga, dan segala pengorbanan yang mendukung proses pendidikan penulis untuk menjadi dokter spesialis. Tanpa dukungan mereka penulis tidak mungkin bisa menyelesaikan proses pendidikan ini dengan baik.



- Seluruh staf pengajar Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, dr. Tantari SHW, Sp.KK(K), dr. Aunur Rofiq, Sp.KK(K), dr. Santosa Basuki, Sp.KK(K), dr. Arif Widiatmoko, Sp.KK(K), dr. Herwinda Brahmanti, M.Sc., Sp.KK(K), Dr. dr. Dhelya Widasmara, Sp.KK(K), Dr. dr. Sinta Murlistyarini, Sp.KK(K), dr. Lita Setyowatie, Sp.KK, dr. Anggun Putri Yuniaswan, Sp.KK, dr. Dhany Prafitia E., dan dr. Suci Prawitasari, Sp.KK yang tanpa lelah memberikan nasihat, arahan, dan bantuan selama penulis menjalani masa pendidikan.

Terima kasih atas semua ilmu yang diberikan dokter, semoga ilmu yang diberikan dapat bermanfaat bagi penulis dan masyarakat.

- Seluruh Staf dan Karyawan Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya
- Seluruh Staf dan Karyawan Laboratorium Materia Medika Batu
- Seluruh teman-teman sejawat Sp.KK dan semua teman-teman peserta didik PPDS Dermatologi dan Venereologi, dr. Inneke Yulian, Sp.KK, dr. RM Boco Pranowo, Sp.DV, dr. Aninda Fitri, Sp.DV, dr. Yustian Devika, Sp.DV, dr. Emy Kusumaningsih, Sp.DV, dr. Rr Vidya Hana, Sp.DV, dr. Faradiani Rasyidi, Sp.DV, dr. Diane Tantia, Sp.DV, dr. Putri Rachma Safitri, Sp.DV, dr. Rizki Hapsari Nugraha, Sp.DV, dr. Noor Hidayah, Sp.DV, dr. Amelia Frischananta, Sp.DV, dr. Dea Florensia, dr. Wuriandaru, dr. Galuh, dr. Adinda, dr. Mazaya, dr. Fitri, dr. Ayu, dr. Devita, dr. Raras, dr. Adya, dr. Rahma, dr. Adi, dr. Anandita, dr. Wika, dr. Lucky, dr. Rina, dr. Agita, dr. Kaori, dr. Aidil, dr. Rona, dr. Intan, dr. Annisa, dr. Bagus, dr. Puput, dr. Amal, dr. Seririna, dan dr. Dixy. Terima kasih atas semua bantuan, kebersamaan dan semua hal yang telah terlewati bersama-sama selama ini.
- Terima kasih kepada semua tenaga paramedis dan non medis di Instalasi Rawat Jalan dan Rawat Inap RSUD dr. Saiful Anwar





Malang, serta para petugas administrasi di Departemen Dermatologi dan Venereologi RSUD dr. Saiful Anwar Malang.

- Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menjalani masa pendidikan yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari Karya Akhir ini masih terdapat banyak kekurangan dan jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis memohon maaf apabila masih terdapat kesalahan dalam penulisan. Penulis juga menghargai segala saran dan masukan agar Karya Akhir ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak.

Terima kasih

Malang, 16 Desember 2021

Ahmad Bayu Aje



## RINGKASAN

**Ahmad Bayu Ajie.** Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis Dermatologi Dan Venereologi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Efek Krim Ekstrak Daun *Physalis Angulata L.* Terhadap Kepadatan Kolagen Kulit *Rattus Norvegicus* Yang Diinduksi Radiasi Ultraviolet-B. Pembimbing : Herwinda Brahmanti, Suci Prawitasari

Penuaan kulit adalah proses yang progresif, multifaktorial, dan kompleks yang memengaruhi penampilan, struktur, mekanisme, dan fungsi kulit. Penuaan kulit menurut etiologinya dibagi menjadi penuaan intrinsik dan ekstrinsik. Faktor ekstrinsik utama adalah paparan sinar UV. Komponen terbanyak dari lapisan dermis adalah kolagen, sehingga kerusakannya merupakan penyebab utama manifestasi penuaan kulit berupa kerutan dan hilangnya elastisitas.

Tanaman *Physalis angulata L.* termasuk tanaman yang mudah tumbuh dan dibudidayakan di Indonesia. Kandungan fitokimia di daun *Physalis angulata L.* yang terbanyak adalah *physalin*, *withanolide* dan *flavonoid*. *Quercetin* adalah senyawa fenolik utama, diikuti oleh *myricetin* dan *kaempferol*. Penggunaan krim dengan kandungan ekstrak daun *Physalis angulata L.* diharapkan dapat mencegah *photoaging* dengan multi mekanisme secara bersamaan yaitu penyerapan radiasi UV, efek antioksidan, dan antiinflamasi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek krim ekstrak daun *Physalis angulata L.* terhadap kepadatan kolagen kulit *Rattus norvegicus* yang diinduksi radiasi UVB. Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium dengan menggunakan subyek hewan coba tikus putih *Rattus norvegicus*.

Hasil penelitian menunjukkan Kelompok *rattus norvegicus* yang mendapat krim ekstrak daun *Physalis angulata L.* memiliki rerata kepadatan kolagen yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok krim vehikulum. Tidak didapatkan perbedaan kepadatan kolagen kulit yang signifikan antara kelompok Perlakuan *rattus norvegicus* yang mendapat krim ekstrak daun *Physalis angulata L.* dengan kelompok yang mendapat krim vehikulum.



## SUMMARY

**AHMAD BAYU AJIE**, Dermatology and Venereology Specialist Program, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Effects of *Physalis Angulata* L. Leaf Extract Cream to Skin Collagen Density of *Rattus Norvegicus* Induced Ultraviolet-B Radiation. Counselors : Herwinda Brahmaniti, Suci Prawitasari

Skin aging is a progressive, multifactorial and complex process that affects the appearance, structure, mechanism and function of the skin. Skin aging according to its etiology is divided into intrinsic and extrinsic aging. The main extrinsic factor is UV light exposure. The most component of the dermis layer is collagen, so its damage is the main cause of skin aging manifestations in the form of wrinkles and loss of elasticity.

*Physalis angulata* L. is an easy plant to grow and cultivate in Indonesia. The most phytochemical content in *Physalis angulata* L. leaves are physalin, withanolide and flavonoids. Quercetin is the main phenolic compound, followed by myricetin and kaempferol. The use of creams containing *Physalis angulata* L. leaf extract is expected to prevent photoaging with multiple mechanisms simultaneously, namely absorption of UV radiation, antioxidant effects, and anti-inflammatory properties.

This study aimed to determine the effect of *Physalis angulata* L. leaf extract cream on the collagen density of *Rattus norvegicus* skin induced by UVB radiation. The research design used was experimental laboratory using the experimental animal subject is *Rattus norvegicus* white rat.

The results showed that the *Rattus norvegicus* group that received *Physalis angulata* L. leaf extract cream had a higher mean collagen density than the vehicle cream group. There was no significant difference in skin collagen density between the *rattus norvegicus* treatment group receiving cream of *Physalis angulata* L. leaf extract and the group receiving vehiculum cream.



## DAFTAR ISI

Halaman sampul luar.....	i
Halaman sampul dalam.....	ii
Lembar persetujuan.....	iii
Lembar pengesahan.....	iv
Pernyataan Keaslian Tulisan.....	v
Lembar Persembahan.....	vi
Kata Pengantar.....	vii
Ringkasan.....	x
Summary.....	xii
Daftar Isi.....	xiii
Daftar Tabel.....	xvi
Daftar Gambar.....	xvii
Daftar Singkatan.....	xviii
Daftar Lampiran.....	xix
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum.....	5
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1 Manfaat Teori.....	6
1.4.2 Manfaat Praktis.....	6

**BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA****2.1 Photoaging ..... 7**

## 2.1.1 Penuaan Kulit ..... 7

## 2.1.2 Mekanisme Penuaan Kulit dan Pengaruh Sinar Ultraviolet ..... 7

## 2.1.3 Manifestasi Klinis Penuaan Kulit ..... 11

**2.2 Kolagen ..... 14**

## 2.2.1 Definisi dan fungsi ..... 14

## 2.2.2 Kolagen Kulit ..... 15

**2.3 *Physalis Angulata L* ..... 16**

## 2.3.1 Karakteristik fisik ..... 16

2.3.2 Kandungan *Physalis Angulata L* ..... 162.3.4 Peran *Physalis Angulata L* Mencegah Dampak Sinar UV ..... 172.3.5 Ekstraksi *Physalis angulata L* ..... 20**2.4 Pemilihan Rute dan Vehikulum Pengobatan Topikal ..... 21****2.5 Penuaan pada Tikus Putih ..... 22****2.6 Penilaian Kepadatan Kolagen ..... 24****BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS****3.1 Kerangka Konsep Penelitian ..... 26****3.2 Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian ..... 27****3.3 Hipotesis Penelitian ..... 28****BAB 4 METODE PENELITIAN****4.1 Rancangan Penelitian ..... 29****4.2 Sampel Penelitian ..... 29**

## 4.2.1 Kriteria Inklusi ..... 29

## 4.2.2 Kriteria Eksklusi ..... 30



4.2.3. Estimasi Besar Sampel .....	30
4.3 Variabel Penelitian .....	31
4.3.1 Variabel Bebas.....	31
4.3.2 Variabel Tergantung .....	31
4.4 Tempat dan Waktu Penelitian.....	31
4.4.1 Tempat Penelitian.....	31
4.4.2 Waktu Penelitian.....	32
4.5 Definisi Operasional.....	32
4.6 Instrumen Penelitian.....	33
4.6.1 Alat.....	33
4.6.2 Bahan.....	34
4.7 Prosedur Penelitian.....	35
4.7.1 Induksi <i>photoaging</i> .....	35
4.7.2 Pembuatan Preparat Histopatologi .....	37
4.8 Alur Penelitian.....	39
4.9 Analisis Data.....	42
4.10 Aspek Etik Penelitian.....	42
BAB 5 Hasil Penelitian dan Analisis Data.....	
5.1 Sampel Penelitian .....	43
5.2 Kepadatan Kolagen Pada Kelompok perlakuan I.....	45
5.3 Kepadatan Kolagen Pada Kelompok perlakuan II.....	45
5.4 Perbedaan Kepadatan Kolagen kelompok I dan II.....	46
BAB 6 Pembahasan.....	
6.1 Pengukuran Kepadatan Kolagen.....	47
6.2 Kontrol dosis UVB pada kedua kelompok perlakuan .....	47



6.3 Pengaruh Krim ekstrak daun <i>Physalis angulata</i> L. terhadap kepadatan Kolagen.....	48
6.4 Keterbatasan penelitian.....	50
<b>BAB 7 Penutup</b>	
7.1 Kesimpulan.....	53
7.2 Saran.....	53
Daftar Pustaka.....	55
Lampiran.....	61



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Klasifikasi Glogau Pada *Photoaging*.....13

Tabel 2.3. Kandungan 100 gr daun *Physalis Angulata L*.....17

Tabel 2.3. Metode Ekstraksi *Physalis angulata L*.....21

Tabel 5.1. Uji Normalitas & Uji Beda Kadar Kolagen.....46





DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Mekanisme Penuaan Kulit.....	10
Gambar 4.1. Alur Penelitian.....	41
Gambar 5.1. Proses Induksi Radiasi UVB.....	43
Gambar 5.2. Pengukuran berat badan.....	43
Gambar 5.3. Pengambilan jaringan kulit.....	43
Gambar 5.4. Kolagen dari kelompok perlakuan I dan II.....	44



## DAFTAR SINGKATAN

AP-1	: Activator Protein-1
COX-2	: Cyclooxygenase-2
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
ECM	: Extracellular matrix
HE	: Hematoxylin & eosin
IL	: Interleukin
KL-T	: kromatografi lapis tipis
LOCI	: Laboratory for Optical and Computational Instrumentation
MAPK	: Mitogen-activated protein kinase
MMP	: Matriks metalloproteinase
NF- $\kappa$ B	: Nuclear factor- $\kappa$ B
NIH	: National Institute of Health (NIH)
PA	: <i>Physalis Angulata L.</i>
RER	: Rough Endoplasmic Reticulum
ROS	: Reactive Oxygen Species
SD	: Standar Deviasi
SPF	: Sun Protection Factor
SWE	: Subcritical Water Extraction
TEWL	: transepidermal water loss
TGF- $\beta$	: Transforming Growth Factor- $\beta$
TIMP	: Tissue Inhibitor of Metalloproteinase
TNF- $\alpha$	: Tumour Necrosis Factor- $\alpha$
UV	: Ultraviolet
UVA	: Ultraviolet-A
UVB	: Ultraviolet-B
UVC	: Ultraviolet-C
VEGF	: Vascular endothelial growth factor



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Analisis Data .....	62
Lampiran 2.Histopatologi.....	63
Lampiran 3 Hasil Pengukuran <i>ImageJ</i> .....	71
Lampiran 4 Keterangan laik Etik penelitian.....	72
Lampiran 5 Keterangan Bebas Plagiasi.....	73



## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Kolagen merupakan komponen terbesar dari lapisan dermis, berkontribusi sekitar 70% dari massa kering kulit, sehingga kerusakannya merupakan penyebab utama manifestasi penuaan kulit berupa kerutan (*wrinkle*), hilangnya elastisitas, dan kekenduran (*sagging*). Ketidakseimbangan antara sintesis kolagen dan degradasi menyebabkan penipisan kolagen secara keseluruhan, bermanifestasi sebagai penurunan kekuatan tarik, ketahanan, dan elastisitas kulit dan berkontribusi pada kerutan kulit (Rittie, 2015).

Pengaturan utama pada proses pembentukan kolagen oleh sel fibroblas adalah *transforming growth factor* (TGF- $\beta$ ) dan *activator protein* (AP-1). Sitokin TGF- $\beta$  merupakan sitokin yang merangsang produksi kolagen, sedangkan AP-1 merupakan faktor transkripsi yang menghambat produksi kolagen serta merangsang pemecahan kolagen. Penuaan intrinsik berperan dalam penurunan TGF- $\beta$  dan akumulasi ROS (*reactive oxygen species*). Sedangkan penuaan ekstrinsik yang terutama disebabkan oleh radiasi sinar UV (Pandel *et al.* 2013).

Paparan sinar UV berhubungan dengan terjadinya 80 % perubahan kulit yang nampak dari penuaan kulit seperti kulit kering, kerutan, dan gangguan pigmentasi.

Selain itu *photoaging* juga berhubungan peningkatan resiko kanker (Amaro-cortiz *et al.* 2014). Paparan sinar UV juga akan menyebabkan peningkatan produksi ROS pada lapisan dermis. Produksi ROS tersebut akan memicu serangkaian reaksi molekuler berantai sehingga meningkatkan pembentukan AP-1 yang akan



menstimulasi proses transkripsi enzim MMP yang berperan dalam proses degradasi kolagen. Senyawa ROS bersama dengan AP-1 juga memiliki peranan dalam menghambat sintesis kolagen dengan cara menghambat reseptor tipe 2 dari TGF- $\beta$ . Serangkaian proses tersebut pada akhirnya akan menyebabkan peningkatan pemecahan kolagen serta penurunan produksi kolagen yang merupakan dasar patofisiologi dari penuaan kulit (Pandel *et al.* 2013).

World Health Organization (WHO) menyatakan bahwa *successful aging* tidak hanya menjadi tua dengan sehat secara fisik saja, tetapi juga sehat secara mental dan sosial termasuk bahagia dan puas dengan dirinya sendiri. Hal ini dapat dicapai dengan salah satu caranya yaitu membangun rasa percaya diri individu melalui pencegahan dan penanganan penuaan kulit (Ghebreyesus, 2017).

Kulit memiliki peranan penting dalam tubuh manusia. Fungsi utama kulit adalah proteksi pengaruh lingkungan terhadap kondisi fisiologis tubuh. Selain fungsi proteksi, kulit adalah satu faktor utama yang berpengaruh terhadap penampilan seseorang. Penampilan yang baik dapat berpengaruh terhadap interaksi sosial. Penuaan kulit adalah proses yang progresif, multifaktorial, dan kompleks yang memengaruhi penampilan, struktur, mekanisme, dan fungsi kulit. Ada dua jenis penuaan kulit: intrinsik dan ekstrinsik. Penuaan intrinsik atau kronologis adalah proses alami yang tidak terkendali ditandai oleh kulit yang kering, pucat, dan berkerut halus (Chiang *et al.* 2011). Sedangkan penuaan ekstrinsik adalah terutama terjadi karena faktor lingkungan, seperti penyinaran ultraviolet (UV) dari matahari, yang merupakan penyebab utama kerusakan kulit yang menyebabkan penuaan dini pada kulit, juga disebut sebagai *photoaging* (Bravo *et al.*, 2017).



Saat ini terdapat beberapa strategi pencegahan *photoaging* melalui beberapa mekanisme, diantaranya pencegahan atau pengurangan intensitas sinar matahari ke kulit dengan pemakaian produk *sunscreen*, strategi lainnya yaitu penggunaan antioksidan dan antiinflamasi untuk menangkal proses yang telah terjadi sebagai akibat radiasi sinar UV pada kulit. Beberapa penelitian dilakukan dengan pemberian ekstrak tanaman maupun derivatnya yang bertujuan untuk menyerap radiasi UV, efek antioksidan dan antiinflamasi secara bersamaan. Jenis tanaman tersebut diantaranya *Blacberry*, *Sasa queipaertensis*, *Gardenia* dan *Scutellaria radix*.

Ekstrak dan derivat tanaman tersebut memiliki efek fotoproteksi terhadap sinar UV. Kandungan quercetin pada tanaman tersebut juga bersifat antioksidan dan antiinflamasi (Boo, 2020).

Tanaman *Physalis angulata L.* termasuk kedalam *family* terung-terungan dan mudah tumbuh dan dibudidayakan di iklim tropis seperti di Indonesia, di beberapa tempat tanaman ini tumbuh liar dan dianggap sebagai gulma (Hidayat et al., 2017).

Kandungan fitokimia di daun *Physalis angulata L.* yang terbanyak adalah *physalin*, *withanolide* dan *flavonoid*. *Flavonoid* terdiri dari senyawa *flavonol*, *flavones*, *Isoflavones*, *flavanones*, *flavan-3-ols*, dan *anthocyanidyn*. Pada tanaman *Physalis angulata L.* *Quercetin* adalah senyawa flavonol utama, diikuti oleh *myricetin* dan *kaempferol* (Alifah, 2018). *Quercetin* diketahui meningkatkan aktivitas antioksidan lebih daripada vitamin E, vitamin C, dan  $\beta$ -karoten, sehingga sangat baik digunakan untuk menangkal efek berbahaya dari sinar UV. *Quercetin* memberikan efek penghambatan yang kuat terhadap aktivitas aktivator protein-1 (AP-1) yang diinduksi oleh UV (Ali, 2017).



Kandungan flavonoid dari daun *Physalis angulata L.* dalam setiap 100 gram adalah 683,77 mg, kandungan flavonoid pada daun ini adalah yang tertinggi jika dibandingkan bagian tanaman yang lain (Alifah, 2018). Kandungan flavonoid ini lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman *Cantella asiatica* (Pratiwi dan Wiadnyani., 2017). Sebuah penelitian menunjukkan bahwa ekstrak air daun ciplukan pada konsentrasi 25 mg/ml dapat menghambat radikal bebas dengan konsentrasi hambat sebesar 92,31 % (Murali *et al.*, 2013). Analisis fitokimia menunjukkan bahwa bagian daun *Physalis angulata L.* memiliki manfaat lebih banyak dibandingkan dengan bagian lain seperti akar, batang, dan buah (Reyes-reyes *et al.*, 2012)

Komposisi optimal dari tabir surya *broadband* yang memberikan perlindungan UVA dan UVB biasanya mengkombinasikan beberapa molekul sintetik yang memiliki gugus yang diilhami oleh polifenol dari alam (Kostyuk *et al.*, 2018). Senyawa fitokimia, terutama antioksidan fenolik dan flavonoid adalah salah satu pilihan paling menarik yang menunjukkan efek menguntungkan pada kulit yang terpapar radiasi UV (Tungmunnithum *et al.*, 2018). Fenolik tanaman dapat menyerap radiasi UV dan bertindak sebagai tabir surya, dengan demikian, dapat menyebabkan penurunan stres oksidatif, peradangan, dan kerusakan DNA akibat radiasi UV pada kulit (Ali, 2017).

Paparan sinar UV memicu pembentukan dan akumulasi ROS yang cepat dalam sel kulit, dengan konsekuensi peningkatan stres oksidatif pada *photoaging*. Suplementasi eksogen dengan antioksidan makanan dan / atau perawatan kulit dengan produk topikal berbasis antioksidan sebelum paparan sinar matahari mungkin menjadi strategi yang baik dalam mencegah mekanisme patologi dari *photoaging* karena pencegahan bekerja multi mekanisme. Senyawa fenolik dari



berbagai tanaman, *Physalis angulata L.*, dapat mencegah penetrasi dari sinar UV, mengurangi inflamasi, dan mempunyai efek antioksidan (Petruk *et al.*, 2018).

Pengunaan krim ekstrak *Physalis angulata L.* diharapkan menjadi upaya pencegahan photoaging dengan multi mekanisme secara bersamaan yaitu penyerapan radiasi UV, efek antioksidan, dan antiinflamasi.

Sebatas pengetahuan penulis belum didapatkan penelitian efek ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap kulit yang mengalami *photoaging*. Penulis tertarik untuk meneliti efek ekstrak daun *Physalis angulata L.* terhadap kepadatan kolagen pada kulit yang mengalami *photoaging* secara *in vivo*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Bagaimanakah efek krim ekstrak daun *Physalis angulata L.* terhadap kepadatan kolagen kulit *Rattus norvegicus* yang diinduksi radiasi UVB?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efek krim ekstrak daun *Physalis angulata L.* terhadap kepadatan kolagen kulit *Rattus norvegicus* yang diinduksi radiasi UVB.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengukur kepadatan kolagen pada kulit *Rattus norvegicus* yang diinduksi radiasi UVB tanpa pemberian krim ekstrak daun *Physalis angulata L.*
2. Untuk mengukur kepadatan kolagen pada kulit *Rattus norvegicus* yang diinduksi radiasi UVB dengan pemberian krim ekstrak daun *Physalis angulata L.*





3. Untuk mengetahui perbedaan kepadatan kolagen pada kulit *Rattus norvegicus* yang diinduksi radiasi UVB pada kelompok kontrol tanpa pemberian ekstrak daun *Physalis angulata L.* dibandingkan dengan kelompok perlakuan dengan pemberian krim ekstrak daun *Physalis angulata L.*

#### 1.4 Manfaat Penelitian

##### 1.4.1 Manfaat Teori:

Menambah ilmu pengetahuan dalam upaya terapi dan pencegahan *photoaging* demi kemajuan ilmu pengetahuan di bidang dermatologi dan venerereologi.

##### 1.4.2 Manfaat Praktis :

Menjadi dasar pengembangan penggunaan krim ekstrak daun *Physalis angulata L.* pada terapi dan pencegahan *photoaging* secara multimekanisme.



## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 *Photoaging*

##### 2.1.1 Penuaan Kulit

Penuaan kulit adalah proses yang progresif, multifaktorial, dan kompleks yang memengaruhi penampilan, struktur, mekanisme, dan fungsi kulit (Chiang *et al.*, 2011)

Penuaan kulit menurut etiologinya dibagi menjadi penuaan intrinsik atau sering disebut sebagai penuaan kronologis yang berhubungan dengan proses penambahan umur dan penuaan ekstrinsik yang terkait dengan faktor lingkungan. Sehingga penuaan yang dialami seseorang adalah kombinasi faktor intrinsik dan ekstrinsik (Lephart, 2016)

Faktor ekstrinsik yang paling signifikan pada manusia adalah paparan sinar ultraviolet (UV) dari matahari sehingga disebut *photoaging*. Oleh karena itu, penduduk suatu daerah dengan paparan sinar UV yang besar sepanjang tahun sangat beresiko terhadap tingginya angka kejadian penuaan kulit (Poon *et al.*, 2015). Sedangkan Indonesia terletak di dekat garis khatulistiwa dengan intensitas sinar ultraviolet matahari yang tinggi sepanjang tahun.

##### 2.1.2 Mekanisme Penuaan Kulit dan Pengaruh Sinar Ultraviolet

Terjadinya *photoaging* pada beberapa dekade terakhir semakin meningkat. Penelitian mengenai prevalensi penuaan kulit masih sangat terbatas, penelitian oleh Green menunjukkan sekitar pada 42% perempuan dan 72% laki-laki di bawah 30 tahun telah mulai mengalami *photoaging* pada kulit (Manriquez, 2014). Pada populasi



yang mengalami paparan sinar matahari yang lebih sering dan memiliki warna kulit yang terang memiliki risiko pajanan radiasi UV yang lebih besar sehingga lebih mudah mengalami *photoaging*. Pekerja luar ruangan lebih banyak mendapat paparan sinar UV. (Poon *et al.*, 2015).

Matahari merupakan sumber sinar UV yang dominan, sehingga merupakan penyebab utama dari *photoaging*. Sinar UV dikelompokkan menurut panjang gelombangnya yaitu UVC (100-290 nm), UVB (290-315 nm), dan UVA (315-400 nm) (Durai, 2012). Sinar UVA memiliki kemampuan penetrasi lapisan kulit yang paling dalam daripada sinar UV yang lain dan dapat menimbulkan akibat yang lebih berat (Pandel *et al.*, 2013).

Penuaan kulit intrinsik adalah proses penuaan kulit kronologis yang terjadi sejalan dengan bertambahnya usia yang sering mulai dialami pada usia mendekati decade keempat. Proses ini berjalan secara perlahan dan akan menyebabkan kerusakan pada struktur dan fungsi jaringan kulit manusia (Sjerobabski-Masnec, 2010).

Proses yang dialami pada penuaan kulit intrinsik terdiri dari dari tiga proses yaitu penurunan kemampuan pembelahan dari sel-sel kulit, penurunan produksi matriks ekstraseluler pada lapisan dermis, serta peningkatan produksi dan aktivitas enzim yang merusak jaringan kolagen di lapisan dermis (Poljsak *et al.*, 2012).

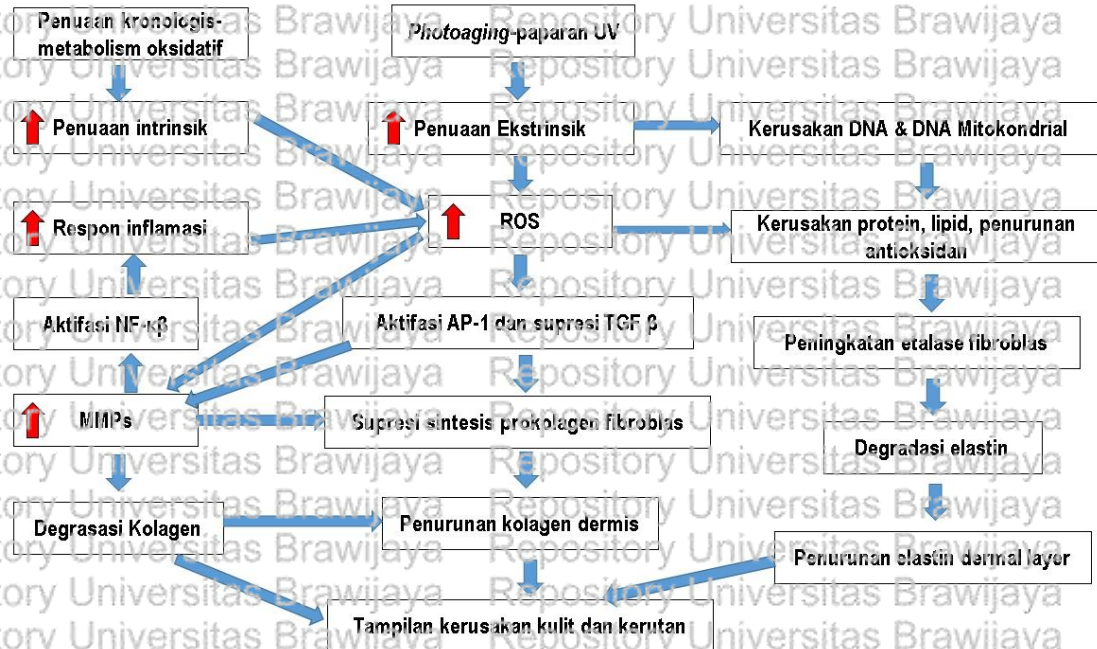
Pada kulit dengan *photoaging*, ketebalan epidermis menjadi tidak teratur dan morfologi sel-sel epidermis menjadi abnormal. Terdapat peningkatan jumlah keratinosit atipikal, terutama dalam lapisan sel keratinosit basal (Poon *et al.*, 2015). Perubahan pigmentasi sering terjadi karena variasi kandungan melanin dan komposisi pada kulit yang terpapar sinar matahari. Penelitian telah menemukan



peningkatan jumlah melanosit pada kulit yang terpapar sinar matahari kronis, yang merupakan dampak dari peningkatan regulasi melanogenesis (Poon *et al.*, 2015)

Banyak perubahan yang terjadi dengan *photoaging* terjadi di dermis. Paparan UV progresif ditambah dengan penuaan kronologis menyebabkan kerusakan signifikan pada *extracellular matrix* (ECM) dermis. Protein struktural utama dalam ECM dermis adalah kolagen dan produksinya menurun dengan paparan UV kronis (Rittie dan Fisher., 2015). Peningkatan aktivitas MMP, terutama karena stres oksidatif yang diinduksi UVA, menyebabkan kerusakan kolagen yang signifikan. Pemecahan kolagen oleh MMPs secara independen mengurangi sintesis kolagen baru dengan mengurangi ketegangan ECM pada fibroblas (Battie *et al.*, 2014). Tingkat kolagen semakin berkurang karena perubahan ekspresi gen yang mengakibatkan penurunan sintesis prokolagen. Ketidakseimbangan antara sintesis kolagen dan degradasi menyebabkan penipisan kolagen secara keseluruhan di ECM, bermanifestasi sebagai penurunan kekuatan tarik, ketahanan, dan elastisitas kulit dan berkontribusi pada terjadinya kerutan kulit (Tobin, 2017).

Perubahan dalam sintesis dan degradasi elastin dan fibrillin menimbulkan ciri histologis *photoaging* dan solar elastosis. Solar elastosis ditandai dengan akumulasi bahan amorf dalam dermis atas yang terdiri dari serat elastin menebal, melengkung, dan rusak (Rittie dan Fisher., 2015). Proses ini disebabkan oleh jalur *mitogen activating protein kinase* (MAPK) dan *Nuclear Factor kappa-B* (NF- $\kappa$ B) yang diaktifkan sebagai respon terhadap ROS yang dihasilkan dari UVR, yang pada akhirnya mengarah pada aktivitas proteolitik terhadap serat elastis dan penghancuran jaringan mikrofibrilar di persimpangan dermoepidermal dan dermis bagian atas (Mora *et al.*, 2016).



**Gambar 1.** Mekanisme Penuaan Kulit. Disadur dari Lephart, 2016

Induksi UV pada gen proinflamasi berkontribusi pada pembentukan dan migrasi infiltrat inflamasi kronis yang terdiri dari eosinofil, makrofag, dan sel mast pada lapisan dermis, yang dikenal sebagai *heliodermatitis* (Poon *et al.*, 2015).

Paparan sinar UV berulang terbukti dapat mempengaruhi *senescent fibroblast* dan *stem cell factor* yang berhubungan dengan hiperpigmentasi kulit terkait paparan sinar matahari kronis (Shin *et al.*, 2012).

*Photoaging* juga dikaitkan dengan perubahan yang signifikan pada pembuluh darah kulit. Radiasi ultraviolet pada awalnya berpengaruh pada faktor *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan penurunan *thrombospondin-1*, sebuah inhibitor angiogenesis, sehingga menacetuskan angiogenesis pada keadaan akut (Poon *et al.*, 2015). Namun, hiperpermeabilitas menyebabkan peningkatan kebocoran sel-sel



inflamasi, berkontribusi terhadap degradasi ECM yang dimediasi imun dan akhirnya menghasilkan penurunan jumlah pembuluh darah (*vascularity*) kulit (Tobin, 2017).

*Flattening* endotel sering terjadi, dan pada *photoaging* yang parah, terdapat pelebaran vena yang signifikan, terlihat secara klinis sebagai telangiektasis. Pada *photoaging* juga dapat menyebabkan berkurangnya kepadatan pembuluh limfatik (Rittie dan Fisher, 2015).

### 2.1.3 Manifestasi Klinis Penuaan Kulit

Kolagen memiliki porsi yang paling besar dari lapisan dermis kulit, perbandingannya sekitar 70% dari massa kulit, sehingga apabila terjadi kerusakan maka akan menjadi penyebab utama tanda-tanda penuaan kulit berupa kerut (*wrinkle*), berkurangnya elastisitas, dan kulit kenduran (*sagging*). Dua faktor pengendali utama pada proses produksi kolagen oleh sel fibroblas adalah *activator protein* (AP-1) dan *transforming growth factor* (TGF- $\beta$ ). TGF- $\beta$  merupakan jenis sitokin yang memicu produksi kolagen, sedangkan AP-1 menghambat produksi kolagen serta memicu pemecahan serat kolagen. Proses penuaan intrinsik memiliki pengaruh terhadap penurunan TGF- $\beta$  dan peningkatan ROS (Poon *et al.*, 2015).

Bagian kulit yang sedang berproses dalam penuaan kulit intrinsik terjadi peningkatan kerutan halus, warnanya akan lebih pucat, terjadi penipisan pada lapisan epidermis dan dermis sehingga kulit menjadi lebih tipis, terlihat transparan, serta terlihat rapuh. Kulit juga terasa menjadi semakin kering dan sering terasa gatal.

Pada proses penuaan kulit kronologis juga terjadi penipisan jaringan lemak, misalnya pada jaringan lemak bagian wajah, sehingga akibatnya pipi terlihat cekung dan juga pembentukan kantung mata. Selain usia, faktor intrinsik lain yang berhubungan adalah perubahan hormonal, ras, dan variasi anatomi kulit, (Poljsak *et al.*, 2012)



Penuaan ekstrinsik disebabkan oleh radiasi sinar UV yang paling utama, radiasi sinar UV ini akan meningkatkan produksi ROS pada bagian dermis kulit. Peningkatan ROS akan memicu peningkatan peningkatan AP-1 yang akan merangsang terjadinya proses transkripsi enzim MMP dan berperan dalam peningkatan degradasi kolagen. Peran ROS dan AP-1 juga menurunkan produksi kolagen dengan cara menghambat reseptor tipe-2 dari TGF- $\beta$ . Beberapa proses tersebut pada akhirnya akan meningkatkan degradasi serat kolagen dan penurunan sintesis serat kolagen yang mendasari proses penuaan kulit (Pandel, 2013).

Selain wajah, penuaan kulit dapat terjadi pada kulit seluruh bagian tubuh. Beberapa kondisi klinis yang berkaitan adalah *seborrheic keratosis*, *actinic keratosis*, *lentigo solaris*, dan pruritus senilis. Pruritus senilis disebabkan oleh kelainan kulit yang kering (*xerosis cutis*). Prevalensi pada usia lanjut diperkirakan sebesar 30-75%. Pruritus senilis terjadi karena meningkatnya *transepidermal water loss* (TEWL), menurunnya kelembaban kulit, serta penurunan produksi sebum dan keringat. Faktor lingkungan juga dapat menjadi pemicu terjadinya *pruritus senilis*, diantaranya mandi yang terlalu sering atau lama, pemakaian sabun yang bersifat iritatif, kelembaban udara yang rendah, pakaian yang bersifat iritatif. Kelainan kulit yang tampak berupa penampilan kulit yang kusam dan kasar disertai skuama, serta keluhan gatal (Wey, 2010).

Kulit yang berwarna gelap lebih baik dalam menanggulangi kerusakan kulit yang disebabkan sinar UV, sehingga terjadinya penuaan kulit lebih lambat 10-20 tahun dan lebih ringan jika dibandingkan dengan populasi dengan kulit yang lebih berwarna cerah. Pada kelompok individu dengan kulit tipe Fitzpatrick III dan IV,



gambaran klinis utama dari *photoaging* yang paling terlihat adalah dispigmentasi (Vashi *et al.*, 2016).

Tabel 2.1 Klasifikasi Glogau untuk *Photoaging*

Grup	Klasifikasi	Tipikal Usia	Deskripsi	Karakteristik kulit
I	Ringan	28-35 tahun	Tanpa kerutan	<i>Photoaging</i> awal : Perubahan pigmen ringan Tanpa keratosis Kerutan minimal Minimal atau tanpa riasan wajah
II	Sedang	35-50 tahun	Kerutan pada saat bergerak	<i>Photoaging</i> awal hingga sedang : Awal SM mulai nampak Keratosis teraba namun tidak terlihat Garis senyuman mulai muncul di pinggir mulut Biasanya menggunakan alas bedak untuk menutupi
III	Lanjut	50-65 tahun	Kerutan muncul saat beristirahat	<i>Photoaging</i> tahap lanjut : Diskolorisasi Telangiektasis Keratosis Selalu memakai alas bedak yang berat
IV	Berat	60-75 tahun	Hanya kerutan	<i>Photoaging</i> berat : Warna kulit kuning abu-abu Berproses dalam terjadinya keganasan kulit Jika memakai alas bedak nampak berdempul dan pecah

Disadur dari Durai, 2012

Klasifikasi *photoaging* dicetuskan oleh Glogau pada tahun 1996. Pada klasifikasi dari Glogau (Tabel 2.1), *Photoaging* diklasifikasikan menjadi 4 tipe yaitu tipe I sampai tipe IV. Klasifikasi Glogau tipe I adalah *photoaging* fase awal yang sering terjadi pada usia 28-35 tahun dan tidak menunjukkan adanya keriput. Pada Glogau tipe II (*moderate*) sudah menunjukkan munculnya keriput pada gerakan wajah saat berekspresi dan sering terjadi pada usia 35-50 tahun. Glogau tipe II (*advanced*)





sering terjadi pada sekitar usia 50 tahun, ditandai dengan adanya keriput pada wajah secara spontan tanpa gerakan (*resting wrinkle*). Sedangkan pada Glogau tipe IV atau tipe yang paling berat sering terjadi pada sekitar usia 60 tahun dan ditandai dengan kerutan dalam jumlah besar (Durai, 2012).

Gambaran klinis dari *photoaging* menunjukkan kondisi kelainan kulit yang kering, kelainan pigmentasi kulit yang tidak teratur (kondisi pigmentasi yang bervariasi dari bertambah gelap sampai bertambah cerah), kulit yang menjadi pucat kekuningan, keriput yang dalam dan teksturnya kasar, kondisi *solar elastosis*, *actinic purpura*, kulit atrofi, kendur, telangiectasis, hingga lesi prakanker (Pandel, 2013).

## 2.2 Kolagen

### 2.2.1 Definisi dan Fungsi

Kolagen berasal dari bahasa Yunani, *koXXa (kolla)* artinya lem dan *yev (gen)* artinya memproduksi. Kolagen diadaptasi pertama kali dalam bahasa Inggris sekitar tahun 1865 (Vesentini *et al.*, 2013)

Protein dari famili kolagen merupakan komponen utama dari jaringan ikat dan sebagian besar protein ekstraseluler mengandung sekitar 80% berat dermis. Sebagai komponen utama jaringan ikat, kolagen adalah protein yang paling banyak pada mamalia, menyusun sekitar 25% hingga 35% dari seluruh kandungan protein tubuh (Sibilla *et al.*, 2015).

### 2.2.2 Kolagen Kulit

Serat kolagen adalah protein *triple heliks* yang tersebar di seluruh bagian tubuh, dan memiliki fungsi sebagai migrasi sel, penempelan sel, *angiogenesis*, pengikat, pembentukan, dan perbaikan jaringan. Kolagen terdiri dari 28 jenis yang disebut dengan kolagen I - XXVIII. Kolagen yang ditemukan pada kulit adalah



kolagen jenis I, III, V, dan VI yang terorganisir membentuk struktur horizontal di lapisan dermis, dan diantara struktur tersebut terdapat serat elastin. Kolagen tipe I adalah yang terbanyak jumlahnya dari jaringan ikat yang ada pada kulit. (Scott dan Benion, 2011). Serat kolagen juga memiliki fungsi kekuatan, integritas, dan ketahanan (Draelos, 2016).

Kolagen tipe I diproduksi di sel fibroblast dengan dua proses, yaitu proses intrasel dan ekstrasel. Pada proses intrasel awalnya terbentuk prokolagen yang berupa 2 rantai peptida alfa pada proses translasi di ribosom sepanjang *Rough Endoplasmic Reticulum* (RER). Selanjutnya, rantai polipeptida dipindahkan ke bagian rantai *pro-alpha*. Kemudian terjadi proses hidroksilasi lisin dan prolin dengan bantuan senyawa asam askorbat. Sisa hidroksilisin akan mengalami glikosilasi dan selanjutnya terbentuk *triple alpha* helik. Pada akhir proses intrasel, prokolagen dieksositososis ke badan Golgi (Mescher, 2010).

Sedangkan pada proses ekstrasel, prokolagen yang telah mengalami eksositososis selanjutnya diubah menjadi tropokolagen oleh bantuan enzim prokolagen peptidase. Beberapa tropokolagen bersatu membentuk fibril kolagen dengan proses *cross-linking* kovalen. Proses ekstrasel terakhir, beberapa fibril kolagen kemudian berikatan membentuk serabut kolagen. (Mescher, 2010).

Kepadatan kolagen dipengaruhi oleh faktor intrinsik dan faktor lingkungan. Faktor yang termasuk dalam faktor intrinsik yaitu faktor genetik dan hormon. Sedangkan faktor ekstrinsik dipengaruhi oleh sinar ultraviolet, diet, dan polusi. Produksi kolagen juga sangat dipengaruhi oleh hormon. Hormon setrogen dapat meningkatkan pembentukan serat kolagen. Wanita yang dalam kondisi menopause



dapat mengalami kondisi penurunan kepadatan kolagen secara signifikan (Farage et al., 2017).

*Matrix metalloproteinase-1* (MMP-1) adalah enzim proteinase ekstraseluler yang paling dominan yang berada di kulit. Enzim MMP-1 ini berperan sebagai pemecah kolagen tipe I di kulit secara fisiologis. Bahan penyusun MMP-1 adalah katalitik, hemopexin, dan propeptida. Kolagen mengalami pemecahan oleh MMP menjadi  $\frac{1}{4}$  dan  $\frac{3}{4}$  bagian, enzim memecah asam amino pada rantai Gly 775 dalam urutan GIA-alpha 1 dan rantai GLL-alpha2 (Chang dan Buehler, 2014).

## 2.3 *Physalis Angulata L.*

### 2.3.1 Karakteristik Fisik

*Physalis angulata L.* dikenal dengan nama ciplukan di Indonesia. Tumbuhan ini merupakan tumbuhan musiman yang banyak tumbuh di semak dan dapat tumbuh hingga 1,0 m. Bagian bunga berbentuk seperti lonceng, morfologi yang paling spesifik adalah kelopak yang ukurannya membesar sehingga menutupi buahnya dan posisinya menggantung seperti lentera (Alifah, 2018).

### 2.3.2 Kandungan *Physalis angulata L.*

Tanaman *Physalis angulata L.* adalah tanaman herbal yang memiliki kandungan *physalin*, asam sitrat, saponin, terpen/ sterol, alkaloid, dan flavonoid. Alkaloid, flavonoid, dan terpenoid termasuk dalam molekul semipolar yang mampu difraksinasi dengan kloroform dari bagian tanaman yang dilakukan ekstraksi dengan etanol 70% (Sunaryo et al., 2012).

Pengujian fitokimia terhadap tanaman *Physalis angulata L.* menunjukkan secara umum tanaman tersebut mengandung flavonoid, alkaloid dan beberapa jenis steroid tanaman. Komponen utama dari tanaman tersebut adalah *physalin* yang



merupakan konstituen laktone steroid dari tanaman genus *physalis* dan beberapa genus lain yang memiliki keterkaitan yang erat dalam keluarga Solanaceae (Chen JX *et al.*, 2009).

Kandungan daun *Physalis angulata L.* dalam beberapa uji kimia salah satunya menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, steroid dan saponin. Kandungan fitokimia terbesar adalah *physalin* (steroid), *withanolide* dan flavonoid (misal *quarcetin*). Aktifitas antioksidan yang paling kuat yang terukur dari *Physalis angulata L.* yaitu fraksi etil asetat, dengan nilai  $IC_{50}$  terendah yaitu 213,34  $\mu\text{g/mL}$  (Gani, 2013).

**Tabel 2.2** Kandungan aktif bagian Daun *Physalis angulata L.*

Kandungan Aktif	mg/100 gram
Flavonoid	683.77 $\pm$ 5.20
Alkaloid	1.85 $\pm$ 0.14
Glycowithanolide	28.36 $\pm$ 0.35
Withanolide bebas	17.72 $\pm$ 0.51

(Disadur dari Ramadan dan Moersel., 2009)

### 2.3.4 Peran *Physalis Angulata L.* dalam Mencegah Dampak Sinar UV

Senyawa fitokimia, diantaranya antioksidan tenolik dan flavonoid adalah senyawa yang menunjukkan efek menguntungkan pada kulit yang terpapar radiasi sinar UV (Tungmunnithum *et al.*, 2018).

Flavonoid dalam berbagai jenis tanaman telah diteliti dan menunjukkan kemampuan fotoproteksi dari sinar UV. Beberapa mekanisme yang terjadi dalam upaya fotoproteksi dari flavonoid pada tanaman adalah absorpsi radiasi sinar UV, *transfer electron* pada radikal bebas, *chelate* katalisis logam, dan aktivasi enzim yang memicu antioksidan (Saewan *et al.*, 2013).

Polifenol memiliki sifat antioksidan biologis secara langsung atau tidak langsung serta efek untuk menghambat beberapa enzim proinflamasi. Sejumlah



penelitian menunjukkan bahwa polifenol memberikan efek antiinflamasi selektif pada kulit dengan memodulasi respon inflamasi sel yang diatur oleh NF- $\kappa$ B (Davinelli *et al.*, 2017). Sejumlah flavonoid seperti luteolin, quercetin, dan catechin telah meningkatkan aktivitas antioksidan lebih kuat daripada vitamin E, vitamin C, dan  $\beta$ -karoten. (Alif Ali, 2017).

Flavonoid pada daun *Physalis angulata L.* dapat meningkatkan proses regenerasi yang disebabkan oleh radikal bebas dengan cara mensintesis substrat kompetitif untuk mempercepat proses perbaikan (Fitri *et al.*, 2016). Flavonoid mengalami proses oksidasi dan menghasilkan radikal yang lebih stabil dan reaktivitas yang lebih rendah (Fiter *et al.*, 2017).

Efek radiasi sinar UV pada *photoaging* di kulit telah banyak dipelajari, yang menunjukkan bahwa baik secara *in vivo* maupun *in vitro* merangsang ekspresi berlebihan dari MMP, termasuk MMP-1, yang memainkan peran penting dalam degradasi komponen ECM pada *photoaging* di kulit (Agic *et al.*, 2018). Karena MMP memainkan peran penting dalam pembentukan kerutan yang merupakan karakteristik *photoaging*, maka inhibitor ekspresi MMP merupakan target terapi yang menjanjikan dalam melawan *photoaging* (Pittayapruek *et al.*, 2016).

Eliminasi radikal bebas oleh aktifitas flavonoid menyebabkan proses inaktivasi *growth factor* dan reseptor sitokin pada fibroblas di dermis dan keratinosit epidermis. Efek dari inaktivasi reseptor ini maka juga terjadi inaktivasi pada jalur sinyal intrasel MAP kinase dan faktor transkripsi AP-1. Pada akhirnya berakibat pada terhentinya transkripsi MMP-1 sehingga mengalami penurunan kadarnya dalam kulit. (Fiter *et al.*, 2017).



Peningkatan ROS akan menyebabkan meningkatnya produksi AP-1 yang akan menyebabkan peningkatan proses transkripsi dari MMP yang memiliki peran penting dalam proses pemecahan kolagen. Sedangkan MMP adalah enzim penentu terjadinya degradasi kolagen, sehingga penurunannya akan berakibat penurunan degradasi kolagen (Pandel, 2013).

*Quercetin* adalah senyawa fenolik utama pada *Physalis angulata L.*, yang diikuti oleh *myricetin* dan *kaempferol*. *Quercetin* merupakan jenis antioksidan golongan flavonol yang paling poten. (Alifah, 2018). *Quercetin* telah terbukti mendownregulasi ekspresi protein MMP-2 dan MMP-9 (Bae et al., 2016). Selain itu *quercetin* dapat menghambat produksi AP-1 secara signifikan pada penelitian terhadap sel endothelial aorta tikus (Panicker, 2010).

Senyawa flavonol adalah senyawa flavonoid yang terbanyak kandungannya pada *Physalis angulata L.*, dimana *quercetin* merupakan jenis antioksidan golongan flavonol yang paling poten. *Quercetin* akan menyerap radiasi UV, sehingga mencegah pembentukan ROS dan kerusakan DNA secara langsung (Wasiati et al., 2019). Secara khusus, *quercetin* bekerja dengan menekan MMP-1 yang diinduksi UV dan ekspresi *cyclooxygenase-2* (COX-2) dan mencegah degradasi kolagen yang dimediasi UV dalam jaringan kulit manusia. *Quercetin* memberikan efek penghambatan yang kuat terhadap aktivitas AP-1 yang diinduksi oleh UV dan NF- $\kappa$ B. *Quercetin* berperan pada molekul target untuk penuaan kulit yang diinduksi UV, sehingga disoroti potensinya sebagai bahan kosmetik untuk produk anti-penuaan (Shin et al., 2019).

*Physalin E* adalah seko-steroid alami yang diisolasi terutama dari batang dan bagian tanaman lain selain akar dari *Physalis angulata L.* *Physalin E* secara signifikan



menghambat ekspresi dan sekresi *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) dan interleukin-6 (IL-6) secara *dose dependent*. Disisi lain *physalin E* mengurangi degradasi protein I-kappa B di dalam sitoplasma dan menurunkan regulasi protein *nuclear factor-kB* (NF-kB) p65 di inti sel, yang mengakibatkan penghambatan translokasi NF-kB. *Physalin E* dapat menghambat produksi sitokin inflamasi dengan menargetkan jalur pensinyalan NF-kB (Yang *et al.*, 2017).

### 2.3.5 Ekstraksi *Physalis angulata L.*

Metode ekstraksi dari tumbuhan *Physalis angulata L.* yang paling umum adalah dengan metode maserasi etanol atau methanol. Selain dengan metode tersebut, dapat juga dilakukan dengan metode maserasi air, perebusan, *soxhlet* air/methanol, dan *Subcritical Water Extraction* (SWE). Ekstraksi dengan metode maserasi adalah proses ekstraksi bahan dengan proses pencelupan menggunakan pelarut yang disesuaikan dengan senyawa aktif yang terkandung didalamnya yang akan diambil dengan proses dengan atau tanpa pemanasan. Metode SWE adalah metode ekstraksi menggunakan pelarut air dengan suhu dan tekanan tinggi (Susanti *et al.*, 2013).

Terdapat beberapa teknik untuk mendapatkan antioksidan dari tanaman, diantaranya ekstraksi *soxhlet*, maserasi, SWE, *Subcritical fluid extraction (SFE)*, dan ekstraksi *ultrasound-assisted*. Hasil ekstraksi dan aktivitas antioksidan tidak hanya dipengaruhi oleh metode ekstraksi tetapi juga pada pelarut yang digunakan untuk ekstraksi. Kehadiran berbagai senyawa antioksidan dengan karakteristik kimia dan polaritas yang berbeda dapat larut atau tidak dalam pelarut tertentu. Etanol dikenal sebagai pelarut yang baik untuk ekstraksi polifenol dan aman untuk penggunaannya

pada manusia, sedangkan metanol dikenal lebih efisien dalam ekstraksi polifenol dengan berat molekul lebih rendah (Do et al, 2014).

**Tabel 2.3.** Metode Ekstraksi *Physalis angulata* L.

Metode	Steroid	Tanin	Fenol	Alkaloid	Flavanoid	Saponin
SWE 100°C	+	+	+	+	+	-
SWE 150°C	+	+	+	+	+	+
SWE 200°C	+	+	+	+	+	-
SWE 250°C	+	+	+	+	+	-
Maserasi	+	+	+	+	+	-
Air						
Ms	+	+	+	+	+	-
Methanol						
Perebusan	-	+	+	+	+	-
Soxhlet Air	+	+	+	+	+	-
Soxhlet	+	+	+	+	+	-
Methanol						

Disadur dari Susanti et al., 2013

#### 2.4 Pemilihan Rute dan Vehikulum Pengobatan Topikal

Flavonoid adalah senyawa yang bersifat sangat lipofilik akibatnya sulit diserap secara oral. Flavonoid dengan jalur masuk oral melalui *first pass metabolism* yang berlebihan menghambat bioavailabilitasnya. Dengan demikian, jalur topikal lebih dipilih untuk *delivery* flavonoid. Namun, stratum korneum bertindak sebagai penghalang utama selama penetrasi kulit yang dapat diatasi *nano capsules*, mikropartikel, *microsponges*, dan lain-lain. Sistem ini membantu dalam merumuskan senyawa hidrofilik dan lipofilik sehingga meningkatkan konsentrasi obat di lokasi target. Keuntungan lain dari pilihan rute topikal adalah pelepasan obat terkontrol pada tingkat yang telah ditentukan dan tidak ada interaksi dengan cairan lambung dan usus sehingga dapat mencegah degradasi produk. Rute topikal juga sangat berguna untuk *delivery* obat dengan waktu paruh lebih pendek dan indeks terapi yang lebih sempit (Nagula dan Wairkar., 2019).





Krim memiliki pengertian sebagai sediaan setengah padat, berwujud sebagai emulsi yang mengandung air lebih dari 60% dan digunakan untuk pemakaian luar (Herdiana *et al.*, 2014). Sediaan krim dapat berupa air dalam minyak dan minyak dalam air, dimana sediaan yang berupa minyak dalam air lebih sering digunakan dalam bidang kosmetika dan estetika. Sediaan krim memiliki sifat umum yaitu mampu melekat pada permukaan kulit dalam waktu yang cukup lama sebelum sediaan ini dicuci atau dihilangkan. Keuntungan dari sediaan krim ialah kemampuan penyebaran yang baik pada kulit, memperlambat penguapan air pada kulit, mudah dicuci dengan air, dan terjadinya pelepasan obat yang lambat (Juwita *et al.*, 2013).

Uji stabilitas pada sediaan krim *Physalis angulata L.* dilakukan dengan uji viskositas, uji organoleptik, dan uji homogenitas pada suhu ruangan dan suhu 45°C yang menunjukkan hasil yang baik sampai minggu ke-8 pada semua konsentrasi ekstrak (Herdiana *et al.*, 2014).

### **2.5 Penuaan pada Tikus Putih *Rattus norvegicus***

Meskipun pada tikus memiliki perbedaan dengan manusia dalam beberapa aspek, tikus sangat mirip dengan manusia dalam hal fungsi fisiologis dan seluler.

Sistem muskuloskeletal, imun, endokrin, dan pencernaan pada tikus dan manusia serupa dalam fungsi dan bentuk anatomisnya. Terlepas dari keunggulan model penuaan tikus, ada beberapa perbedaan penting terkait usia antara tikus dan manusia. Berbeda dengan manusia, tikus memiliki telomer panjang dan aktivitas telomerase tinggi di banyak organ. Mereka dapat mensintesis vitamin C tetapi manusia tidak bisa (Vanhooren, 2013). Meskipun demikian, tikus memiliki perubahan morfologis kulit yang mirip dengan perubahan kulit manusia akibat penuaan (Sayama *et al.*, 2010).



Terlepas dari kesamaan tertentu dalam proses molekuler dan fisiologis dasar antara tikus dan manusia, tikus dapat dipelihara di bawah kondisi peternakan yang tepat dan dapat menjadi hewan yang lebih cocok untuk mempelajari proses penuaan sistem integumen. Hampir tidak ada data yang tersedia tentang perubahan histologis dari penuaan intrinsik pada hewan lain seperti anjing, babi domestik, atau kelinci, meskipun spesies tersebut banyak digunakan untuk studi biomedis dan fisiologis (FARGE *et al.*, 2017).

Secara klinis akibat dari paparan sinar UV terhadap kulit *Rattus norvegicus* juga mirip seperti pada kulit manusia, pada sebuah penelitian dengan melakukan perlakuan penyinaran sinar UVB 311 nm, 3 kali seminggu dengan dosis kumulatif 840 mJ/cm<sup>2</sup> selama 4 minggu didapatkan kulit tikus mengalami perubahan yaitu munculnya kerutan kulit (*wrinkles*) dari skala 1 ke skala 3 klasifikasi Glogau (Dewi *et al.*, 2019).

Perubahan klinis pada kulit tikus yang mengalami *photoaging* yang paling menonjol adalah kerutan (*wrinkles*). Sedangkan secara histologis perubahan kulit tikus yang mengalami *photoaging* dideskripsikan dengan penebalan epidermis, infiltrasi sel-sel radang, perubahan *bundle* serat kolagen menjadi tidak teratur, serat elastis yang tidak teratur dan terputus (Wang *et al.*, 2016)

Penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa dosis radiasi UV-B 10-40 mJ/cm<sup>2</sup> dengan waktu radiasi selama 15-30 detik dan 60 detik berpotensi mengurangi viabilitas fibroblas tipe IV-V di kulit. Radasi UVB 3 kali seminggu selama 6 minggu dengan ukuran 130 mJ/cm<sup>2</sup> *in vivo* menyebabkan peningkatan kerusakan fibroblas pada tikus. Studi yang dilakukan oleh Wahyono menjelaskan bahwa induksi radiasi UVB memiliki efek untuk mengurangi ekspresi kolagen tipe I dan peningkatan MMP-



1 pada kulit *Rattus norvegicus* yang berusia 4 hingga 7 bulan. Pemberian induksi radiasi UVB dengan dosis  $130 \text{ mJ/cm}^2$  hingga  $150 \text{ mJ/cm}^2$  dapat mengurangi ekspresi kolagen tipe-1 dan meningkatkan ekspresi MMP-1 pada kulit tikus yang berusia 4-7 bulan (Wahyono, 2020).

Faktor stres psikososial dapat mempengaruhi penuaan tikus. Pada tikus yang dilakukan induksi stres yang dilakukan dengan kekalahan dominasi (*social defeat*) menunjukkan adanya peningkatan ROS dan peningkatan sitokin-sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$  dan IL-6 (Finnell *et al.*, 2017).

Pemilihan hewan coba *Rattus norvegicus* pada penelitian penuaan kulit didasari oleh kemiripan struktur anatomis dan fisiologis (Farage *et al.*, 2017), kemudahan dan cepatnya berkembang biak (Kartika *et al.*, 2013) sehingga memudahkan memperoleh kelompok tikus yang berasal dari indukan dari peternakan yang sama dan memperoleh perawatan yang sama. Sedangkan alasan memilih jenis kelamin jantan adalah ketidakadanya pengaruh siklus reproduksi dan hormonal yang terdapat pada pada tikus betina (Guillen, 2012).

## 2.6 Penilaian Kepadatan Kolagen

Kepadatan kolagen dapat diamati dengan pemeriksaan histopatologis menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x yang dilengkapi dengan kamera. Penilaian secara obyektif dapat dilakukan dengan penggunaan software ImageJ yang dapat membandingkan pixel kolagen dengan pixel keseluruhan foto dengan satuan persentase. (Chen *et al.*, 2017). Aplikasi ImageJ mengenali pixel dari spektrum warna tertentu, pixel warna tertentu yang terpilih kemudian dihitung jumlahnya dan dihitung proporsinya dengan pixel warna lain. Hasil perhitungan ini



berupa angka dalam satuan persen. Pada pengaturan juga terdapat mode khusus yang mengenali serabut kolagen dengan pewarnaan *Masson Trichome*.

ImageJ adalah software yang dikembangkan oleh *National Institute of Health* (NIH) dan *Laboratory for Optical and Computational Instrumentation* (LOCI).

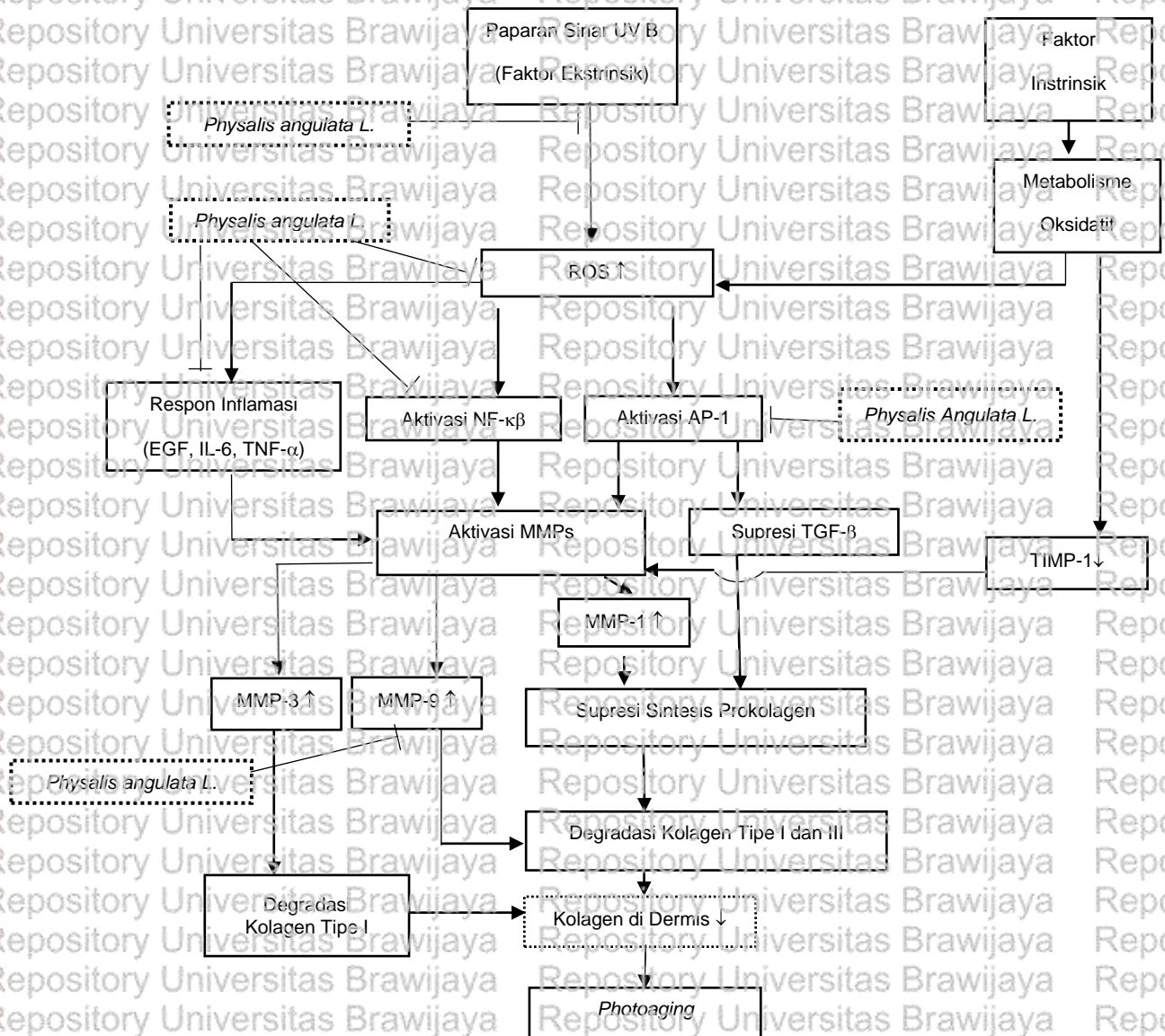
Kelebihan utama ImageJ adalah dapat mengubah data kualitatif seperti gambar menjadi data kuantitatif yang bisa disajikan dalam bentuk grafik. Selain itu aplikasi ini dapat diunduh secara gratis (Schneider et al., 2012)



## BAB 3

### KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

#### 3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan :

AP-1  
EGF  
IL-6

: Activator Protein-1  
: Epidermal Growth Factor  
: Interleukin-6



MAPK	: <i>Mitogen-activated Protein Kinase</i>
MMP	: <i>Matrix Metalloproteinases</i>
NF- $\kappa$ B	: <i>Nuclear factor-kappaB</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
TIMP-1	: <i>Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1</i>
TNF- $\alpha$	: <i>Tumor Necrosis Factor- Alpha</i>
Variabel yang diteliti	: Repository -
Inhibisi	: _____

### 3.2. Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian

Penuaan dipengaruhi oleh faktor intrinsik dan ekstrinsik. Penuaan secara intrinsik telah lama diyakini terutama terkait dengan penumpukan ROS sebagai produk sampingan dari metabolisme sel dan kerusakan pada komponen seluler seperti membran, enzim, dan DNA. Penuaan secara intrinsik juga dapat menyebabkan penurunan dari TIMP-1 yang mengatur keseimbangan MMP. Modifikasi faktor intrinsik sulit untuk dilakukan, maka pencegahan dan penatalaksanaan faktor ekstrinsik lebih sering dikembangkan.

Paparan radiasi ultraviolet (UV) merupakan faktor ekstrinsik utama yang memainkan peran penting dalam penuaan kulit, maka strategi untuk pencegahan paparan adalah langkah terpenting dalam pencegahan *photoaging*. *Photoaging* merupakan suatu proses yang salah satunya disebabkan oleh penurunan jumlah kolagen pada kulit oleh karena paparan sinar UV. Paparan sinar UV menyebabkan kerusakan pada kulit dengan terjadinya fotooksidasi yang menyebabkan pengeluaran ROS. Saat terjadi ketidakseimbangan dan ROS dalam jumlah yang berlebihan maka akan terjadi aktivasi AP-1, aktivasi NF- $\kappa$ B, dan mengeluarkan respon inflamasi. Kemudian, respon sitokin inflamasi, aktivasi AP-1 dan NF- $\kappa$ B akan menyebabkan aktivasi MMP yang merupakan enzim yang berperan penting pada degradasi kolagen. Aktifasi AP-1 juga dapat menghambat aktivitas TGF- $\beta$  yang dapat menurunkan sintesis prokolagen.



Aktivasi MMP akan menyebabkan terjadinya peningkatan terutama pada MMP-1, MMP-3, MMP-7 dan MMP-12. Matriks metalloproteinase-1, yang merupakan salah jenis dari matriks metalloproteinase, yang akan mendegradasi kolagen tipe I dan III yang merupakan jenis kolagen yang paling banyak. Peningkatan MMP-1 akan menyebabkan supresi dari sintesis prokolagen. Pada akhirnya, akan terjadi degradasi kolagen tipe I dan III dan selanjutnya akan menyebabkan penurunan kolagen di dermis yang akan menyebabkan *photoaging*.

*Physalis angulata L.* mengandung flavonoid yang merupakan suatu antioksidan yang mampu menjadi fotoproteksi dengan mengabsorpsi radiasi sinar UV, *scavenger* dari ROS dan selanjutnya dapat mencegah proses *photoaging*.

*Physalin E* yang terkandung dalam *Physalis angulata L.* memberikan efek antiinflamasi selektif pada kulit dengan memodulasi respon inflamasi sel yang diatur oleh NF- $\kappa$ B. *Quercetin* telah terbukti menurunkan ekspresi protein MMP 2 dan 9 yang berperan dalam peningkatan degradasi kolagen. Selain itu *quercetin* juga dapat menghambat produksi AP-1 secara signifikan. Serangkaian mekanisme aksi dari senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun *Physalis angulata L.* dapat berperan dalam mengatasi patomekanisme penuaan kulit.

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Kepadatan kolagen pada kelompok tikus *Rattus norvegicus* yang diinduksi radiasi UVB dengan pemberian krim ekstrak daun *Physalis angulata L.* lebih tinggi dari pada kelompok tikus *Rattus norvegicus* yang diinduksi radiasi UVB dengan pemberian krim vehikulum.



## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian pada penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan menggunakan subyek hewan coba tikus putih *Rattus norvegicus*. Penelitian ini mengukur kepadatan kolagen terhadap pemberian krim ekstrak daun *Physalis angulata L.* pada kulit *Rattus norvegicus* yang diinduksi radiasi UVB. Penelitian dilakukan pada 2 kelompok hewan coba, kelompok pertama adalah tikus putih yang diinduksi radiasi UVB dengan pemberian ekstrak daun *Physalis angulata L* dan kelompok kedua adalah tikus putih yang diinduksi radiasi UVB dengan pemberian krim vehikulum. Tiap-tiap kelompok perlakuan dilakukan pemeriksaan pemeriksaan histopatologis pada hari ke-30.

#### 4.2 Sampel Peneiitian

Sampel penelitian yang ditentukan adalah tikus putih *Rattus norvegicus*, jantan, galur Wistar, berusia 3 bulan, dengan berat badan berkisar antara 180-220 gram, yang diperoleh dari laboratorium Biosains Universitas Brawijaya.

##### 4.2.1 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi sampel yang digunakan adalah:

1. Tikus putih *Rattus norvegicus* jantan galur wistar yang sehat, dengan ciri-ciri rambut bersih dan tidak rontok, tidak terdapat luka, bergerak aktif, serta memiliki respon lari dan mudah dikejutkan.
2. Berat badan antara 180-220 gram.





3. Usia 3 bulan

4. Didapatkan dari tempat pembiakan yang sama dengan pakan yang sama pula.

#### 4.2.2 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi sampel diantaranya adalah:

1. Terdapat penurunan berat badan pada tikus putih *Rattus norvegicus* jantan galur wistar selama masa aklimatisasi 7 hari dan saat masa perlakuan lebih dari 10% dari berat awal.
2. Sampel mengalami sakit, dengan kriteria rambut terlihat kusam, mengalami kerontokan atau kebotakan dan aktivitasnya kurang aktif atau tidak aktif, serta keluarnya eksudat tidak normal, misalnya keluar dari mulut, mata, anus, atau genital.
3. Sampel mati selama masa perlakuan.

#### 4.2.3 Estimasi Besar Sampel (Pengulangan)

Banyaknya sampel hewan coba untuk masing-masing kelompok ( $n$ ) data berpasangan menggunakan rumus Federer :

$$(r-1)(t-1) > 15$$

Pada penghitungan tersebut menunjukkan  $r$  adalah replikasi dan  $t$  adalah jumlah kelompok pengamatan atau intervensi, sehingga diperoleh :

$$(r-1)(2-1) > 15$$

$$(r-1) 1 > 15$$

$$r > 16$$

Dengan menentukan antisipasi *drop out* 10%, sehingga diperoleh  $n = 18$ .



Besar sampel hewan coba untuk masing-masing sampel adalah 18, dengan jumlah kelompok sampel ada 2 yaitu sampel tikus putih yang diinduksi radiasi UVB dengan pemberian vehikulum dan kelompok kedua sampel tikus putih yang diinduksi radiasi UVB dengan pemberian krim ekstrak daun *Physalis angulata L.* Total hewan coba sebanyak 36 ekor. Pembagian sampel ke dalam tiap-tiap kelompok perlakuan dilakukan secara acak.

### 4.3 Variabel Penelitian

#### 4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah jenis perlakuan yaitu pemberian krim *Physalis angulata L.* atau vehikulum krim. Jenis perlakuan dibagi menjadi 2 kelompok:

1. Perlakuan 1 Diberi induksi radiasi UVB 3 kali per minggu dengan pemberian krim ekstrak daun *Physalis angulata L.*
2. Perlakuan 2 Diberi induksi radiasi UVB 3 kali per minggu dengan pemberian vehikulum krim.

#### 4.3.2 Variabel Tergantung

Kepadatan kolagen pada pemeriksaan histopatologis kulit tikus putih *Rattus norvegicus* jantan galur wistar.

### 4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

#### 4.4.1 Tempat Penelitian

Tempat penelitian ditentukan di Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya. Pembuatan preparat jaringan dan analisis kepadatan kolagen kulit tikus putih *Rattus norvegicus* jantan, galur Wistar, dilakukan oleh bagian laboratorium histologi Biosains Universitas Brawijaya.



#### 4.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan setelah mendapat persetujuan etik penelitian.

#### 4.5 Definisi Operasional

1. Induksi radiasi UVB adalah penyinaran kulit punggung *Rattus norvegicus* dengan sinar UVB 311 nm yang bertujuan membuat kondisi *photoaging*. Penyinaran dilakukan pada bagian dorsal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang telah dicukur bulunya setiap sebelum induksi radiasi UVB dengan ukuran 3x3cm. Induksi radiasi UVB pada kedua kelompok tikus putih dilakukan sebanyak 3 kali seminggu selama 28 hari, yaitu pada hari Senin, Rabu, dan Jumat (Wahyono, 2020). Induksi radiasi UVB menggunakan alat lampu UVB dengan dosis induksi radiasi 130 mJ/cm<sup>2</sup>. Pengukuran berat badan tikus dilakukan setiap 7 hari sekali yaitu setiap hari senin.
2. Krim ekstrak *Physalis angulata L.* adalah campuran ekstrak *Physalis angulata L.* dan bahan dasar krim. Proses ekstraksi diawali dengan pengeringan daun dan dijadikan bentuk serbuk. Kemudian serbuk tumbuhan diekstraksi dengan cara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan antara serbuk dan etanol sebesar 1:10. Ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) selanjutnya dibuat dalam bentuk krim dengan konsentrasi 10% (Abdul-Nasir-Deen *et al.*, 2020). Sediaan krim dibuat dengan dengan metode Tano (Tano, 2005). Bahan dasar krim yang digunakan yaitu gliserin, trietanolamin, minyak jagung, asam stearat, setil alkohol, pewangi, dan akuades (Herdiana *et al.*, 2014). Proses ekstraksi dan pembuatan sediaan krim dilakukukan di laboratorium Herbal Materia Medika Batu.



3. Kepadatan kolagen adalah perbandingan antara pixel serabut kolagen dengan pixel keseluruhan gambar histologi. Kolagen tampak berupa serabut berwarna biru pada pengecatan Masson Trichome (Chen, *et al*, 2017). Pada penelitian ini diambil foto serabut kolagen dari 5 lapangan pandang untuk setiap preparat dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali. Kepadatan serabut kolagen kemudian dihitung dengan menggunakan program software image-J version 1.52a. Setiap foto dihitung kepadatan serabut kolagennya, yaitu dengan membandingkan *pixel* serabut kolagen dengan *pixel* area total dan hasilnya berupa persentase. Kemudian dihitung nilai rerata kepadatan serabut kolagen dari setiap preparat pada tiap-tiap kelompok perlakuan. Data yang disajikan merupakan data numerik.

#### 4.6 Instrumen Penelitian

##### 4.6.1 Alat

##### 4.6.1.1 Alat-alat yang diperlukan selama pemeliharaan hewan

- Kandang dengan ukuran panjang 31 cm, lebar 27 cm, dan tinggi 12 cm (satu kandang untuk 3 hingga 4 ekor tikus) dan pakannya
- Catatan observasi tikus putih selama masa aklimatisasi dan setelah perlakuan

##### 4.6.1.2 Alat-alat yang diperlukan untuk induksi radiasi UVB pada kulit

- Sarung tangan lateks sekali pakai ukuran L
- Lampu UVB dengan panjang gelombang stabil yaitu 312 nm dan dosis induksi radiasi UVB 130 mJ/cm<sup>2</sup>
- UV Light-meter



- Kotak kayu persegi panjang khusus sebagai stabilisasi tikus putih saat di pajan sinar UVB, sehingga tidak bergerak ketika diinduksi radiasi UVB.

- Pencatat waktu
- Pencukur bulu tikus

#### 4.6.1.3 Alat-alat yang diperlukan untuk pengambilan jaringan

- Tabung sampel
- Pinset
- Skapel no. 11
- Spuit 1 cc
- Kassa steril

#### 4.6.1.4 Alat-alat yang diperlukan untuk pengamatan jaringan

- Mikroskop cahaya BX53

#### 4.6.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan untuk perlakuan yaitu:

- Krim ekstrak *Physalis Angulata L* dengan konsentrasi 10%
- Vehikulum krim

Bahan-bahan yang diperlukan untuk sampel jaringan kulit, yaitu:

- Antiseptik alkohol 70 %
- Formalin 10 %
- Air distilasi
- Larutan *Xylo/ Entellan*
- *Microtome*



- Glassware

- Tissue embedding TEC-5

- Hot plate

- Water bath

- Pinset

## 4.7 Prosedur Penelitian

### 4.7.1 Induksi *Photoaging*

Pembuatan penuaan kulit pada hewan coba dilakukan dengan cara sebagai berikut (Rahmawati et al., 2019):

1. Penentuan lokasi yang akan diinduksi radiasi UVB pada tubuh bagian dorsal.
2. Mencuci tangan dengan sabun dan memakai sarung tangan steril.
3. Dilakukan pencukuran bulu tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar bagian dorsal sebesar 3x3 cm. Pencukuran bulu tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar pada bagian tersebut dilakukan setiap sebelum induksi radiasi UVB dan dilakukan monitorisasi terhadap pertumbuhan bulu.
4. Induksi radiasi UVB dilakukan 3 kali seminggu selama 28 hari, yaitu setiap hari Senin, Rabu, dan Jumat.
5. Induksi radiasi UVB yang digunakan yang memiliki panjang gelombang stabil yaitu 312 nm.
6. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang akan diinduksi radiasi UVB dimasukkan ke dalam sebuah kotak kayu persegi panjang untuk menstabilisasi tikus sehingga tidak dapat bergerak ketika diinduksi radiasi UVB. Lampu UVB juga dimasukkan ke dalam kotak kayu persegi panjang di sisi atas



kotak stabilisasi tikus sehingga jarak radiasi UVB dan punggung tikus tidak berubah setiap paparan.

7. Dosis induksi radiasi UVB sebesar  $130 \text{ mJ/cm}^2$

8. Terapi krim diberikan sesuai dengan kelompok perlakuan yang telah ditentukan sebelumnya. Kelompok perlakuan diberikan krim ekstrak daun *Physalis angulata L.* dan pada kelompok perlakuan II diberikan vehikulum. Terapi krim diberikan pada kelompok perlakuan I dan II setiap hari dilakukan pengolesan 2 kali dengan interval 4 jam 20 menit secara bersamaan terhadap seluruh hewan coba.

9. Pada hari induksi radiasi UVB, krim ekstrak daun *Physalis angulata L.* dengan konsentrasi 10% dioleskan pada bagian dorsal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang telah dicukur 20 menit sebelum diberi induksi radiasi UVB untuk memberikan waktu absorpsi bahan krim ke dalam kulit dan 4 jam pasca induksi radiasi UVB karena ROS mulai terbentuk 4 jam setelah induksi radiasi UVB (Tawaran *et al.*, 2016).

10. Krim ekstrak daun *Physalis angulata L.* dengan konsentrasi 10% dan vehikulum dioleskan pada bagian dorsal tikus putih yang telah dicukur sebanyak  $0,025 \text{ gram/cm}^2$  atau per pengolesan pada kelompok perlakuan secara bersamaan (Serafini *et al.*, 2018).

#### 4.7.2 Pembuatan Preparat Histopatologi dan Pengukuran

##### 4.7.2.1 Tahapan Pembuatan Preparat Histopatologi

1. Pemeriksaan histopatologis dari jaringan kulit tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar dengan cara mengambil jaringan kulit pada tikus yang



sudah dilakukan *euthanasia* menggunakan ketamin dosis *letal* yang diberikan secara intramuskular. Jaringan kulit diambil secara eksisi dengan ukuran 1 cm x 1 cm x 4 mm pada bagian dorsal tikus putih yang telah dicukur (Dianmentari *et al.*, 2020).

2. Pengambilan jaringan kulit dan pembuatan preparat histopatologi hewan coba dalam satu kelompok dilakukan secara bersamaan.
3. Tahap fiksasi : Jaringan kulit yang telah diambil kemudian difiksasi dengan larutan formalin 10% selama 18-24 jam dalam suhu ruang.
4. Tahap Dehidrasi. Selanjutnya jaringan kulit dicuci dengan air yang mengalir selama 30 menit. Jaringan kulit dimasukkan ke dalam beberapa cairan secara bertahap, yaitu cairan ethanol 60%, 70%, 80%, 90%, dan ethanol absolut sebanyak 3x tahapan, masing-masing didiamkan selama 60 menit dan yang terakhir dibiarkan semalaman.
5. Tahap *clearing* : Selanjutnya jaringan kulit dimasukkan ke dalam cairan *xylene/xylol* sebanyak 3x tahapan, masing-masing tahapan selama 60 menit, dan pada tiap tahapan dicek hingga warna jaringan berubah menjadi transparan.
6. Tahap infiltrasi : Kemudian jaringan dimasukkan ke dalam parafin dengan titik leleh 62°C minimal selama 4 jam
7. Tahap *embedding* : yaitu tahap penempelan sampel jaringan kulit pada *cassete*.
8. Tahap selanjutnya adalah *sectioning/slicing*, dimana blok ditempelkan pada *microtome* kemudian jaringan kulit disayat secara vertikal membentuk pita dengan ketebalan 3-5 mikrometer. Sayatan tersebut diambil dengan





menggunakan kuas kecil dan kemudian diletakkan pada *water bath* yang mengandung aquades dengan suhu 45°C. Setelah sayatan jaringan kulit terentang, sayatan kulit diambil dengan menggunakan *object glass* dan didiamkan pada *hot plate* dengan suhu 45°C selama 24 jam.

9. Tahap *staining*: Pewarnaan pada preparat dilakukan dengan pewarnaan *Masson Trichome*.

#### 4.7.2.2 Pengukuran

Spesimen yang telah dilakukan pewarnaan selanjutnya diamati di bagian patologi anatomi Biosains. Preparat diletakkan di bawah mikroskop cahaya kemudian dihitung jumlah kepadatan kolagen pada pembesaran 400x pada 5 lapangan pandang untuk masing-masing preparat. Sediaan histologi jaringan kemudian difoto dan dilakukan kuantifikasi menggunakan program komputer *ImageJ version 1.52a*. Langkah-langkah cara menghitung kepadatan serabut kolagen menggunakan aplikasi *ImageJ*, adalah sebagai berikut:

1. Buka aplikasi *ImageJ* versi 1.52a
2. Buka gambar yang akan dihitung persentase kepadatan kolagennya, kemudian klik *File*, selanjutnya pilih *Open*
3. Pilih *file* gambar yang akan dihitung kepadatan kolagennya.
4. Lakukan dekonvulsi warna
5. Ganti kolom *vector* dengan *Masson Trichome*
6. Pilih image 1 (warna biru) representasi dari kolagen
7. Pilih menu *Image > Adjust > Threshold*



8. Pilih bagian yang menandakan kolagen dengan menggeser kursor sebaran warna. Warna yang akan dihitung/diukur adalah yang berwarna hitam. Karena yang dihitung adalah bagian kolagen, pastikan yang terwarnai hitam hanyalah bagian kolagen sedangkan lainnya misalnya fibroblas atau pembuluh darah tetap berwarna putih.
9. Pilih menu *Analyze > Set measurement*, pastikan bagian *area fraction* tertandai, kemudian klik OK.
10. Pilih menu *Analyze > pilih Analyze Particles*
11. Tabel hasil akan keluar dan bagian yang diinginkan tertulis pada % Area
10. Gambar yang dianalisis disimpan dengan cara klik *File save as, JPG format*.
11. Kemudian berikan nama yang untuk gambar yang telah dianalisis dan klik OK

#### 4.8 Alur Penelitian

Penelitian diawali dengan melakukan pemilihan hewan coba berdasarkan kriteria inklusi yang sudah ditentukan. Hewan coba menjalani masa aklimatisasi selama 7 hari di laboratorium Biosains Universitas Brawijaya. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar dibiasakan dengan kandang yang baru, serta makanan dan minumannya.

Selama dalam masa aklimatisasi, tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar diberikan makanan dan minuman secukupnya, diletakkan dalam kandang.

Satu kandang diisi 3 hingga 4 ekor tikus putih. Tikus putih yang mengalami penurunan berat badan lebih dari 10 % atau mati tidak diikutkan pada penelitian.

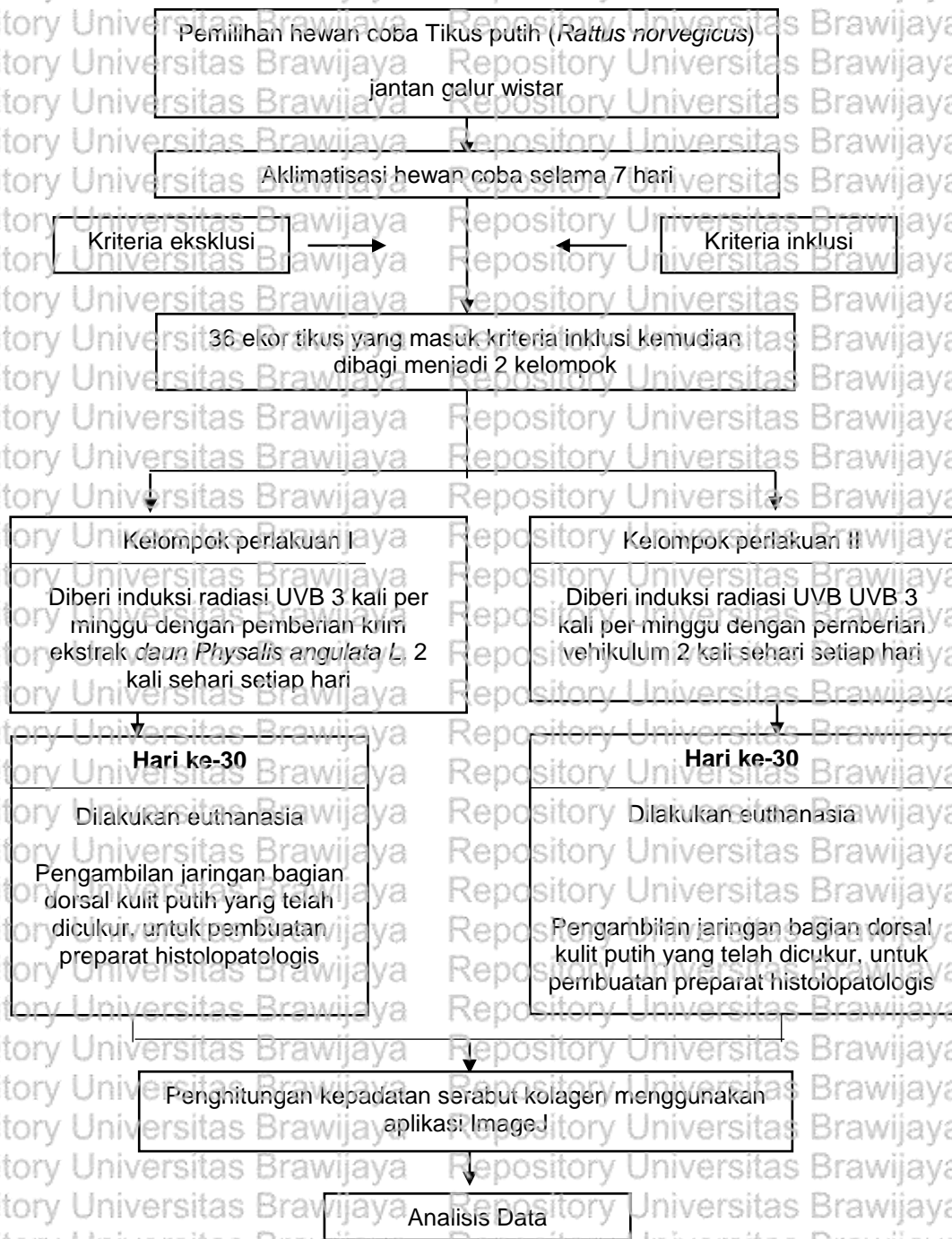
Kemudian dilakukan pencukuran pada bagian dorsal tikus dengan ukuran 3x3 cm



Hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar (36 ekor) diberikan perlakuan induksi radiasi UVB. Kulit tikus putih yang diinduksi radiasi UVB diberikan pemberian krim sesuai kelompoknya, kelompok perlakuan I diberikan krim ekstrak daun *Physalis angulata* L. dan pada kelompok perlakuan II diberikan vehikulum sebelum dan sesudah diinduksi radiasi UVB dan pada hari tanpa penyinaran setiap hari sebanyak 2 kali sehari.

Pengambilan jaringan seluruh hewan coba dilakukan pada hari ke-30 setelah perlakuan. Sebelum dilakukan pengambilan jaringan, kulit pada hewan coba difoto.

Hewan coba kemudian di *euthanasia* dengan ketamin dosis letal secara intramuskular. Sampel jaringan kulit tikus putih dieksisi dan dibuat menjadi preparat histopatologi, dilakukan pewarnaan *Masson Trichome* (MT). Kemudian dilakukan menghitung kepadatan serabut kolagen menggunakan aplikasi ImageJ.



Gambar 4.1 Alur Penelitian



#### 4.9 Analisis Data

Data hasil dari penelitian ini adalah data kuantitatif yaitu kepadatan kolagen dari jaringan kulit yang diinduksi radiasi UVB pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar. Analisis data merupakan uji komparatif numerik tidak berpasangan dengan satu kali pengukuran. Analisis data dimulai dengan uji distribusi data. Apabila distribusi data normal dilakukan uji *T test* tidak berpasangan baik varian sama maupun berbeda. Sedangkan apabila distribusi data tidak normal dilakukan uji *Mann-Whitney U Test*. Uji statistik menggunakan tingkat kepercayaan sebesar 0,95 dengan tingkat signifikansi ( $\alpha$ ) = 0,05.

#### 4.10 Aspek Etik Penelitian

Pada proses pelaksanaan penelitian, peneliti harus menentukan dan menyesuaikan protocol penelitian dengan aturan standar etik yang berlaku secara etik penelitian kesehatan dan ilmiah. Penelitian yang menggunakan model hewan coba yang mengalami penderitaan dan mati untuk kepentingan kebaikan manusia perlu adanya jaminan kesejahteraan. Pada penelitian yang memanfaatkan hewan coba harus menerapkan prinsip 3R dalam protokol penelitian yang akan dilaksanakan. Prinsip tersebut adalah *reduction*, *replacement*, dan *refinement* (Ridwan., 2013).

Pada penelitian ini, setelah masa adaptasi, hewan coba akan ditimbang ulang dan bagi hewan coba dengan perubahan berat badan lebih dari 10% atau hewan coba yang tampak sakit tidak diikutsertakan dalam penelitian. Sebelum pengambilan jaringan kulit, hewan coba di *euthanasia* dengan ketamin dosis letal.



## BAB 5

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

#### 5.1 Sampel Penelitian

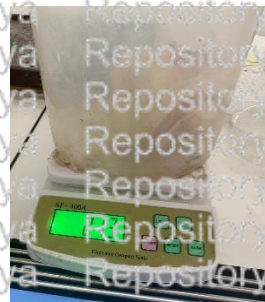
Penelitian dilakukan dengan pemilihan 36 ekor hewan coba berdasarkan kriteria inklusi yang sudah ditentukan. Penelitian dilakukan pada bulan Agustus 2021 setelah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya (*Animal Care and Use Committee*) dengan terbitnya surat Keterangan Kelalkan Etik "*Ethical Clearance*" No. 038-KEP-UB-2021.

Hewan coba menjalani masa aklimatisasi selama 7 hari di laboratorium Biosains Universitas Brawijaya. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar dibiasakan dengan kandang yang baru, serta makahan dan minumannya. Setelah selesai dilakukan aklimatisasi, dilakukan pengerokan bulu pada punggung kiri tikus dengan ukuran 3x3 cm. Selanjutnya dilakukan pengolesan krim sesuai kelompok perlakuan pada sebelum dan sesudah penyinaran. Sebelum penyinaran dilakukan pengukuran dosis radiasi lampu UV (Gambar 5.1) menggunakan *UV light meter* kemudian dihitung berapa lama yang dibutuhkan agar didapatkan 130 mJ/cm<sup>2</sup>.

Penyinaran dilakukan pada hari Senin, Rabu, Jum'at (Gambar 5.1b) Berat badan tikus dievaluasi setiap 7 hari yaitu setiap hari senin (Gambar 5.2). Perlakuan dilaksanakan selama 28 hari, kemudian pada hari ke-30 dilakukan *euthanasia* dan pengambilan jaringan (Gambar 5.3). Setelah itu dilakukan pembuatan preparat, pewarnaan *Masson Trichome*, pengambilan gambar, pembacaan data menggunakan perangkat lunak *ImageJ version 1.53c* dan analisis data (Gambar 5.4).



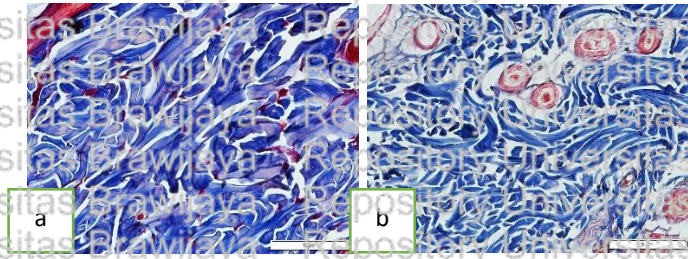
**Gambar 5.1. Proses Induksi Radiasi UVB.**  
a) Pengukuran dosis radiasi, b) Induksi Radiasi UVB



**Gambar 5.2. Pengukuran berat badan**



**Gambar 5.3. Pengambilan jaringan kulit**



**Gambar 5.4.** Kolagen dari kelompok perlakuan I dan II, tampak kolagen berwarna biru (Masson Trichome, 400X). a) Kelompok perlakuan I; b) Kelompok perlakuan II. Pengamatan pada kelompok II menunjukkan serat kolagen yang lebih terfragmentasi dibanding pada kelompok I.

### 5.3 Kepadatan Kolagen Pada Kelompok perlakuan I

Kelompok perlakuan I pada penelitian ini adalah kelompok perlakuan terhadap *Rattus norvegicus* jantan galur wistar yang berjumlah 18 ekor yang diberi induksi radiasi UVB 3 kali per minggu dengan pemberian krim ekstrak daun *Physalis angulata* L. 2 kali sehari setiap hari yaitu sebelum dan sesudah penyinaran.

Kemudian pada hari ke-30 dilakukan *euthanasia* dan pengambilan jaringan bagian dorsal kulit putih yang telah dicukur, untuk pembuatan preparat histopatologi dan dianalisis kepadatan kolagennya. Rerata kepadatan kolagen dari 18 hewan coba adalah  $44,975 \pm 7,600$ . Hasil uji normalitas kepadatan kolagen pada kelompok perlakuan I (krim ekstrak daun *Physalis angulata* L.) menunjukkan nilai signifikansi

0,336 maka dapat disimpulkan bahwa asumsi normalitas terpenuhi.

### 5.3 Kepadatan Kolagen Pada Kelompok perlakuan II

Kelompok perlakuan II pada penelitian ini adalah kelompok perlakuan terhadap *Rattus norvegicus* jantan galur wistar yang berjumlah 18 ekor yang diberi induksi radiasi UVB 3 kali per minggu dengan pemberian vehikulum 2 kali sehari setiap hari yaitu sebelum dan sesudah penyinaran. Kemudian pada hari ke-30





dilakukan *euthanasia* dan pengambilan jaringan bagian dorsal kulit putih yang telah dicukur, untuk pembuatan preparat histopatologi. Rerata kepadatan kolagen dari 18 hewan coba adalah  $42,531 \pm 11,861$ . Hasil uji normalitas kepadatan kolagen pada kelompok perlakuan II (krim vehikulum) menunjukkan nilai signifikansi 0,871 maka dapat disimpulkan bahwa asumsi normalitas terpenuhi.

#### 5.4 Perbedaan Kepadatan Kolagen Pada Kelompok Perlakuan I dan II

Hasil uji beda kepadatan kolagen antara kelompok perlakuan I dan II dengan menggunakan *independent t-test* dapat dilihat pada Tabel 5.1

**Tabel 5.1 Uji Beda Kepadatan Kolagen antara dua kelompok perlakuan menggunakan *independent t test*.**

Perlakuan	Kepadatan kolagen	
	Rata-rata (SD)	Nilai P
Perlakuan I	44,975±7,600	0,467
Perlakuan II	42,531±11,861	

Hasil uji beda menunjukkan nilai p sebesar 0,467 maka dapat disimpulkan bahwa kepadatan kolagen pada kelompok perlakuan I (krim ekstrak daun *Physalis angulata* L.) dan kepadatan kolagen pada kelompok perlakuan II (krim vehikulum) tidak berbeda signifikan.



## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Pengukuran Kepadatan Kolagen

Pengukuran kepadatan kolagen dapat dilakukan dengan metode *morphometric* dan kuantifikasi hidroksirolin. Metode *morphometric* adalah penilaian kepadatan dengan membandingkan morfologi kolagen dengan keseluruhan lapangan pandang pada bidang foto 2 dimensi. Sedangkan deteksi kadar hidroksirolin dapat digunakan untuk menilai kuantitas kolagen dari keseluruhan jaringan kulit karena hidroksirolin adalah asam amino utama dari serat kolagen, sehingga perbandingan jumlahnya dianggap mewakili perbandingan kepadatan kolagen (Abreu *et al.*, 2010). Metode *morphometric* adalah metode yang lebih sering digunakan. Metode ini membandingkan jumlah pixel keseluruhan kolagen dengan keseluruhan pixel lapangan pandang. Namun metode ini juga memiliki keterbatasan yaitu hanya dapat menilai secara 2 dimensi. Sehingga hanya dapat membandingkan luas, bukan volume (Chen *et al.*, 2017). Pada penelitian ini penilaian kepadatan kolagen menggunakan metode *morphometric* menggunakan perangkat lunak *ImageJ* pada foto histologi potongan jaringan dengan pewarnaan *Masson Trichome*.

#### 6.2 Kontrol dosis UVB pada kedua kelompok perlakuan

Dosis energi yang diterima kulit hewan coba perlu dilakukan kontrol, sehingga tiap perlakuan penyinaran didapatkan dosis yang selalu konstan atau diusahakan semaksimal mungkin mendekati dosis yang konstan. Besaran energi yang diterima dipengaruhi oleh kekuatan sumber energi radiasi, jarak antara sumber dan penerima



(mempengaruhi fokus radiasi), waktu dan medium radiasi (Grimes, 2014). Pada penelitian untuk mengontrol jarak iradiasi dilakukan dengan penggunaan kotak fiksasi tikus. Dosis setiap detiknya didapatkan dengan pengukuran dosis yang didapatkan pada titik di dalam kotak fiksasi menggunakan *UV light meter*. Dosis total satu kali perlakuan ditentukan dengan lamanya penyinaran setelah dilakukan pengukuran. Pengukuran selama penelitian pada titik penyinaran didapatkan besaran energi sekitar 3,5-6 mJ/cm<sup>2</sup>/detik. Misalnya pada saat pengukuran menunjukkan 5 mJ/cm<sup>2</sup>/detik, dibutuhkan penyinaran selama 26 detik untuk mendapatkan dosis 130 mJ/cm<sup>2</sup>.

### 6.3 Pengaruh Krim ekstrak daun *Physalis angulata L.* terhadap kepadatan Kolagen

Berdasarkan hasil penelitian, rerata kepadatan kolagen dari kelompok perlakuan I adalah 44.975±7.600, sedangkan dari kelompok perlakuan II adalah 42.531±11.861. Sampai saat ini belum ada laporan mengenai kepadatan kolagen kulit *Rattus norvegicus* baik dalam kondisi normal maupun dalam kondisi *photoaging*. Hasil rerata kepadatan kolagen pada kedua kelompok memang terdapat selisih, dan lebih tinggi pada kelompok perlakuan I yaitu kelompok yang mendapat krim ekstrak daun *Physalis angulata L.*, namun dari hasil uji beda tidak ditemukan perbedaan kepadatan kolagen yang signifikan pada kedua kelompok perlakuan.

Penelitian ini menunjukkan hasil perbedaan kepadatan kolagen yang tidak signifikan antara 2 kelompok perlakuan, tetapi diharapkan menjadi dasar lebih lanjut penelitian selanjutnya mengenai manfaat ekstrak *Physalis angulata L.* sebagai *antiaging* mengingat secara teori dari beberapa penelitian menunjukkan adanya zat-



zat aktif yang sudah diteliti memiliki manfaat dalam menghambat ROS, menghambat MMP, dan memicu produksi kolagen. Penelitian oleh Luliana (2019) melaporkan bahwa pada semua metode pengeringan daun *Physalis angulata L.* (pengeringan angin, matahari, oven, dan daun segar) berhasil didapatkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, feni, dan steroid tanaman (Luliana *et al.* 2019). Sehingga disimpulkan semua metode pengeringan tersebut tetap dapat digunakan.

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi data dasar untuk penelitian selanjutnya untuk mengetahui manfaat krim ekstrak *Physalis angulata L.* sebagai *antiaging*.

Gambaran histopatologi pada kedua kelompok belum menunjukkan kerusakan kolagen seperti yang sering diamati pada kulit yang mengalami *photoaging*. Hal ini dapat terjadi karena kurangnya dosis radiasi maupun kurang lamanya total hari penyinaran, meskipun pada penelitian sebelumnya penyinaran 130 mJ/cm<sup>2</sup> seminggu 3 kali selama 28 hari cukup untuk meningkatkan ekspresi MMP-1 pada kulit *Rattus novvergicus* (Wahyono, 2020). Diduga peningkatan ekspresi MMP-1 ini belum mengakibatkan perubahan moriologi serat kolagen. Dugaan ini didukung oleh sebuah penelitian yang melaporkan terbentuknya kerutan (*wrinkle*) pada penyinaran UVB 180 mJ sebanyak 3 kali seminggu selama 12 minggu (Khan *et al.*, 2020).

Konsentrasi ekstrak *Physalis angulata L.* pada penelitian ini ditentukan sebesar 10 % dinilai cukup dan sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa konsentrasi 10 % dari ekstrak *Physalis angulata L.* dapat menekan inflamasi dan bermanfaat pada sintesis kolagen pada penyembuhan luka



(Abdul-Nasir-Deen *et al.*, 2020). Sedangkan penelitian mengenai toksisitas sediaan dari ekstrak *Physalis angulata L.* belum ditemukan, sehingga dapat dilakukan penelitian lanjutan dengan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi, dengan didahului dengan uji keamanan.

#### 6.4 Keterbatasan Penelitian

Proses kuantifikasi dari serat kolagen dengan perangkat lunak *ImageJ* pada prinsipnya adalah membandingkan luas suatu warna terpilih dengan keseluruhan area yang diamati. Warna yang dipilih tersebut walaupun sudah tersedia pengaturan khusus untuk pewarnaan *Masson Trichome* namun operator harus menentukan *threshold* secara manual. Pengukuran dengan metode *ImageJ* sering digunakan dan telah tervalidasi dalam mengukur kuantitas gambar histopatologi. (Chen *et al.*, 2017).

Keterbatasan metode penilaian secara kuantitatif menggunakan metode *morphometric* yaitu hanya dapat menilai secara 2 dimensi dapat diminimalisir pada penelitian selanjutnya dengan mengganti atau mengkombinasikan pengukuran menggunakan aplikasi *ImageJ* dengan perbandingan kadar Hidroksirolin yang diukur dengan metode ELISA. Perbandingan kadar Hidroksirolin ini dapat menggambarkan perbandingan kuantitas serabut kolagen (Abreu *et al.*, 2010). Saat ini telah tersedia kit ELISA untuk pengukuran kadar Hidroksirolin dari jaringan (Cisell *et al.*, 2017).

Pada pewarnaan *Masson Trichome*, kolagen terwarnai dengan warna biru, namun dari pengamatan dari 36 preparat menunjukkan tingkat kebiruan yang berbeda, sehingga dapat dikatakan terdapat inkonsistensi pewarnaan. Pada proses pewarnaan *Masson Trichome* sediaan melalui beberapa kali perendaman dengan



reagen dan pewarna yang berbeda secara bersamaan. Proses pewarnaan pada penelitian ini tidak dapat dilakukan secara bersamaan, sehingga dari masing-masing tahapan diduga terdapat beda waktu perlakuan. Terjadinya inkonsistensi pewarnaan sebelumnya sudah diantisipasi dengan melakukan tehnik pewarnaan sesuai pedoman, dengan memperhatikan durasi dari masing-masing proses dan diupayakan keseragamannya. Pemilihan tempat pewarnaan ditentukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang dinilai kompeten dalam melakukan pewarnaan. Dampak inkonsistensi ini sudah diminimalisasi dengan pemilihan 5 lapang pandang yang mendekati epidermis dari masing-masing preparat.

Pada penelitian ini tidak dilakukan uji fitokimia karena penelitian ini bertujuan untuk menentukan manfaat dari seluruh komponen dari ekstrak daun tanaman *Physalis angulata* L. Karena tidak dilakukan uji fitokimia maka tidak diketahui secara pasti kandungan senyawa aktif yang terdapat di ekstrak maupun sediaan krim. Sehingga dimungkinkan tidak terdapat senyawa yang memiliki efek yang menguntungkan dalam penelitian. Alasan lain mengapa tidak dilakukan uji fitokimia pada penelitian adalah proses ekstraksi pada pembuatan krim pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol karena krim akan digunakan pada hewan coba. Sedangkan pada uji fitokimia idealnya menggunakan menggunakan methanol karena dapat melarutkan hampir semua senyawa organik (Andayani *et al*, 2008).

Setelah dilakukan pengamatan histopatologi, induksi radiasi dinilai kurang adekuat. Hal ini ditunjukkan oleh gambaran serat kolagen tidak banyak mengalami fragmentasi (gambar 5.4). Hal ini memungkinkan menyebabkan hasil yang tidak signifikan. Pada penelitian selanjutnya dapat dilakukan penelitian pendahuluan atau



pemeriksaan pendahuluan untuk memastikan induksi radiasi telah menyebabkan *photoaging* (dipastikan dengan pemeriksaan histopatologi). Keterbatasan penelitian mengenai dosis radiasi ini sudah diantisipasi dengan penyesuaian dosis sesuai penelitian sebelumnya. Dosis 130 mJ dengan pemberian 3x seminggu selama 4 minggu sudah terbukti meningkatkan ekspresi MMP-1 (Wahyono, 2020). Konfirmasi kecukupan dosis radiasi kumulatif dapat dilakukan dengan menambahkan kelompok kontrol yang mendapat radiasi tanpa pemberian krim yang secara berkala dinilai munculnya kerutan dengan pengamatan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x. Penghentian radiasi periodic ditentukan dengan munculnya kerutan yang dibandingkan dengan sebelum dimulainya pemberian radiasi UVB. Sedangkan pengaturan dosis pada alat dapat ditentukan dengan dosis 180 mJ/cm<sup>2</sup> yang telah terbukti cukup untuk menimbulkan kerutan pada kulit tikus (Khan *et al.*, 2020).

Konsentrasi ekstrak daun *Physalis angulata L.* sebesar 10 % mungkin dinilai cukup untuk mempengaruhi faktor-faktor yang mempengaruhi kepadatan kolagen (paparan sinar UV, inflamasi, MMP), namun pada konteks *photoaging* konsentrasi tersebut dinilai belum optimal. Sehingga pada penelitian selanjutnya dapat digunakan krim dengan konsentrasi ekstrak daun *Physalis angulata L.* yang berbeda-beda misalnya 5%, 10%, dan 20% untuk perbandingan hasil sehingga diketahui konsentrasi ekstrak yang paling optimal.



## BAB 7

### PENUTUP

#### 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai efek krim ekstrak daun *Physalis angulata* L. terhadap kepadatan kolagen kulit *rattus norvegicus* yang diinduksi radiasi Ultraviolet-B, dapat disimpulkan:

1. Kelompok *rattus norvegicus* yang mendapat krim ekstrak daun *Physalis angulata* L. memiliki rerata kepadatan kolagen yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok krim vehikulum.
2. Tidak didapatkan perbedaan kepadatan kolagen kulit yang signifikan antara kelompok *rattus norvegicus* yang mendapat krim ekstrak daun *Physalis angulata* L. dengan kelompok yang mendapat krim vehikulum.

#### 7.2 Saran

Setelah didapatkan hasil penelitian, kami memberikan saran:

1. Melanjutkan penelitian dengan dosis radiasi UVB yang lebih tinggi misalnya 180 mJ sebanyak 3 kali seminggu selama 12 minggu sampai dipastikan terjadinya *photoaging* secara histopatologis dan atau secara makroskopis mulai terbentuk kerutan (*wrinkles*).
2. Melanjutkan penelitian menggunakan konsentrasi ekstrak daun *Physalis angulata* L. yang bervariasi dan dengan konsentrasi lebih tinggi.





3. Menambahkan metode deteksi kadar hidroksiprolin dengan metode ELISA dan membandingkan hasilnya dengan metode *morphometric*
4. Melakukan pewarnaan preparat dengan lebih konsisten
5. Menambah satu kelompok kontrol yaitu kelompok kulit *rattus norvegicus* tanpa penyinaran yang mendapat krim vehikulum
6. Melakukan uji fitokimia pada sediaan krim yang digunakan pada penelitian ekstrak daun *Physalis angulata L.*



## DAFTAR PUSTAKA

- Abdul-Nasir-Deen, A. Y., Boakye, Y. D., Osalo, N., Agyare, C., Boamah, D., Boamah, V. E., & Agyei, E. K. 2020. Anti-inflammatory and wound healing properties of methanol leaf extract of *Physalis angulata* L. *South African Journal of Botany*, 133, 124-131.
- Abreu, E. L., Palmer, M. P., & Murray, M. M. 2010. Collagen density significantly affects the functional properties of an engineered provisional scaffold. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 93(1), 150-157. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.32508>
- Aggarwal, B.B. et al. 2015, *Curcumin Differs from Tetrahydrocurcumin for Molecular Targets, Signaling Pathways and Cellular Responses*. *Molecules*. [Online] 20(1), p.185-205. Available from: <http://www.mdpi.com/1420-3049/20/1/185/htm>
- Ali, A. 2017, Phenolics for skin photo-aging. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 30(4).
- Alifah, H. 2018, *Pengaruh Fraksi Kloroformherba Ciplukan (Physalis Angulata L.) Terhadap Pencegahan Kerusakan Fotoreseptor Tikus Putih (Rattus Norvegicus Strain Wistar) Yang Diinduksi Streptozotocin*. Repository Universitas Muhammadiyah Malang diakses dari <http://eprints.umm.ac.id/id/eprint/39732>
- Amaro-Ortiz, A., Yan, B., & D'Orazio, J. (2014). *Ultraviolet Radiation, Aging and the Skin: Prevention of Damage by Topical cAMP Manipulation*. *Molecules*, 19(5), 6202–6219. doi:10.3390/molecules19056202
- Andayani, Yovita dan Maimunah. 2008, Penentuan Aktivitas Antioksidan Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum* L.). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, Vol 1 No.1 5 Sains dan Teknologi Farmasi. UNAND: Padang.
- Augustine, A. A. dan Uluoma, O. 2013. Flavonoids from the leaves of *Physalis angulata* Linn. *Planta Medica*, 79(13), hal. 1211.
- Bae, M., Karadeniz, F., Lee, S., Seo, Y., & Kong, C. 2016, Inhibition of MMP-2 and MMP-9 Activities by *Limonium tetragonum* Extract. *Preventive Nutrition and Food Science*, 21, 38 - 43.
- Battie, C., Jitsukawa, S., Bernerd, F., del Bino, S., Marionnet C., Verschoore M, 2014, New insights in photoaging. UVA induced damage and skin types. *Exp Dermatol*. 2014;23(Suppl 1):7–12 A
- Boo Y. C. 2020, Emerging Strategies to Protect the Skin from Ultraviolet Rays Using Plant-Derived Materials. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 9(7), 637. <https://doi.org/10.3390/antiox9070637>
- Bravo, K., Duque, L., Ferreres, F., Moreno, D. A., & Osorio, E. 2017, *Passiflora tarminiana* fruits reduce UVB-induced photoaging in human skin fibroblasts. *Journal of Photochemistry and Photobiology Biology*. 168, 78-88 doi:10.1016/j.jphotobiol.2017.01.023
- Chang, S.W., Buehler, M.J. 2014, *Molecular biomechanics of collagen molecules*. *Materials today*. [Online] 2(17), p.70-76. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369702114000261>.



- Chen, Y., Yu, Q. and Xu, C.B., 2017, A convenient method for quantifying collagen fibers in atherosclerotic lesions by ImageJ software. *Int J Clin Exp Med*, 10(10), pp.14904-14910.
- Chiang, H.-M., Lin, T.-J., Chiu, C.-Y., Chang, C.-W., Hsu, K.-C., Fan, P.-C., Wen, K.-C. 2010, Coffea arabica extract and its constituents prevent photoaging by suppressing MMPs expression and MAP kinase pathway. *Food Chem. Toxicol.* 49 (2011) 309–18. doi:10.1016/j.fct.2010.10.034
- Cissell DD, Link JM, Hu JC, Athanasiou KA. A Modified Hydroxyproline Assay Based on Hydrochloric Acid in Ehrlich's Solution Accurately Measures Tissue Collagen Content. *Tissue Eng Part C Methods*. 2017 Apr;23(4):243-250. doi: 10.1089/ten.tec.2017.0018. PMID: 28406755; PMCID: PMC5397204.
- Davinelli, S., Bertoglio, J. C., Polimeni, A., & Scapagnini, G. 2018, Cytoprotective polyphenols against chronological skin aging and cutaneous photodamage. *Current pharmaceutical design*, 24(2), 99-105.
- Dewi, NPH., Ratnayanti IGAD., Arijana IGKN., Linawati NM. 2019, Effect of single clove garlic (*Allium sativum* L.) on clinical symptoms of photoaging in Wistar rats exposed with UV-B. *Bali Anatomy Journal (BAJ)* Volume 2, Number 2: 40-44
- Dianmentari, B., Pinatih, G. N. I., & Wiraguna, A. A. G. P. 2020, Topical administration of deep sea shark liver oil (desslotm) inhibited mmp-1 expression in rat's skin exposed to ultraviolet-B. *IJAAM (Indonesian Journal of Anti-Aging Medicine)*, 4(1), 1-4.
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y.-H. 2014, Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302. doi:10.1016/j.jfda.2013.11.001
- Draelos, Z.D. et al., 2016, *Cosmetic Dermatology: Products and Procedures*. John Wiley & Sons, Ltd. : West Sussex.p15.
- Durai PC, Thapa DM, Kumari R, Malathi M. 2012, Aging in elderly: chronological versus photoaging. *Indian J Dermatol*.2012; 57(5): 343-52.
- Farage, M. A., Miller, K. W., & Maibach, H. I. 2017, *Textbook of aging skin*. Springer Science & Business Media, 121-129.
- Finnell, J. E., Lombard, C. M., Padi, A. R., Moffitt, C. M., Wilson, L. B., Wood, C. S., & Wood, S. K. 2017, Physical versus psychological social stress in male rats reveals distinct cardiovascular inflammatory and behavioral consequences. *PLOS ONE*, 12(2), e0172868. doi:10.1371/journal.pone.0172868
- Fiter, J., Wiraguna, A. P., & Pangkahila, W. 2017, Pemberian tempoyak per oral dapat menghambat peningkatan ekspresi matriks metaloproteinase-1 pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina dewasa galur Wistar yang dipajan sinar UVB. *JURNAL BIOMEDIK: JBM*, 9(2), 95-100.
- Fitri, N. L. Susetyarini, R. E. Waluyo, L. 2016, Pengaruh Ekstrak Buah Ciplukan (*Phisalis angulata* L.) terhadap Kadar SGPT dan SGOT Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*) Hiperglikemia yang Diinduksi Alokasan sebagai Sumber Belajar Biologi. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*. 2(2): 180-187.
- Ganceviciene R, Liakou AI, Theodoridis A, Makrantonaki E, Zouboulis CC. 2012, *Skin anti-aging strategies*. *Dermatoendocrinol* 2012;4:308-19.



- Ghebreyesus, T. A. et al. 2017, *Global strategy and action plan on ageing and health*. Geneva: World Health Organization; Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. 978-92-4-151350-0
- Grimes, D. R. (2014). Ultraviolet radiation therapy and UVR dose models. *Medical Physics*, 42(1), 440–455. doi:10.1118/1.4903963
- Guillen J. 2012. *FELASA guidelines and recommendations*. J Am Assoc Lab Anim Sci. 2012; 51(3):311-321
- Herdiana Y., Susilo H., dan Muztabadihardja. 2014, Formulasi krim pencerah wajah ekstrak etanol 70% daun ciplukan (*Physalis angulata* L.). *Jurnal Penelitian Program Studi Farmasi FMIPA*, Universitas Pakuan Bogor, h 7
- Hidayat, T., Priyandoko, D., Wardiny, P. Y., & Islami, D. K. 2016, Molecular Phylogenetic Screening of *Withania somnifera* Relative From Indonesia Based on Internal Transcribed Spacer Region. *HAYATI Journal of Biosciences*, 23(2), 92-95
- Hwang KA, Yi BR, Choi KC. 2011, Molecular mechanism and in vivo mouse models of skin aging associated with dermal matrix alterations. *Lab Anim Res* 2011;27(1):1-3.
- Juwita. A. P., Yamlean, P. V., & Edy, H. J. 2013, Formulasi krim ekstrak etanol daun lamun (*Syringodium isoetifolium*). *Pharmacon* 2(2), h 8.
- Kandola K, Bowman A, Birch-Machin MA. 2015, Oxidative stress-a key emerging impact factor in health, ageing, lifestyle and aesthetics. *Int J Cosmet Sci* 2015;37 Suppl 2:1-8
- Kartika, A. A., Siregar, H. C. H., Fuah, A.M. 2013. Business Development Strategies of Rats (*Rattus norvegicus*) and Mice (*Mus musculus*) Farm at Faculty of Animal Science, IPB. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*: ISSN 2303-2227
- Khan, A., Bai, H., Khan, A., & Bai, Z. 2020, Neferine prevents ultraviolet radiation-induced skin photoaging. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 19, 3189-3196. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8587>
- Kostyuk, V., Potapovich, A., Albuhaydar, A. R., Mayer, W., De Luca, C., & Korikina, L. 2018, Natural substances for prevention of skin photoaging: screening systems in the development of sunscreen and rejuvenation cosmetics. *Rejuvenation research*, 21(2), 91-101.
- Krishna, M., Vadiuri, A., Kumar, M. 2013, In Vitro Determination Of Antioxidant Activity Of *Physalis Angulata* Linn. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* : 4(3): (P) 541 – 549
- Lephart, E. D. 2016, Skin aging and oxidative stress: Equol's anti-aging effects via biochemical and molecular mechanisms. *Ageing Research Reviews*, 31, 36–54. doi:10.1016/j.arr.2016.08.001
- Luliana, S.; Riza, H.; Iswahyudi, I. 2019, Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun *Physalis Angulata* L. *Farmasains* 2019, 5, 15-19.
- Manriquez JJ, Cataldo K, Vera-Kellet C, Harz-Fresno I. 2014, *Wrinkle*. *BMJ Clin Evid* 2014;12:1-47.
- Mescher, A.L. 2010, *Junqueira's Basic Histology Text & Atlas : Connective Tissue*. Singapore: The McGraw-Hill Companies, Inc. p. 94-97.



- Mora, HAC., Schmelzer, CE., Hoehenwarter, W., Heyroth, F., Heinz, A. 2016, Molecular-level insights into aging processes of skin elastin. *Biochimie*. 2016;128-129:163-73.
- Vesentini S, Redaelli A, Gautieri A. 2013, Nanomechanics of collagen microfibrils. *Muscles Ligaments Tendons J*. May. 21,3(1):23-34. doi: 10.11138/mltj/2013.3.1.023.
- Murali, K., Ajender, Manoj. 2013, In Vitro Determination Of Antioxidant Activity Of Physalis Angulata Lnn. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* : 4(3): (P) 541 -549
- Nagula, R. L., & Wairkar, S. 2019. Recent advances in topical delivery of flavonoids: A review. *Journal of controlled release*, 190-201.
- Pandei R, Poljsak B, Godic A, Dahmane R. 2013, Skin photoaging and the role of antioxidants in its prevention. *ISRN Dermatol*;2013:1-11.
- Panicker S R., Sreenivas, P. Babu, M. S. Karunagaran, D. Kartha., C. C. 2010, Quercetin attenuates monocyte chemoattractant protein-1 gene expression in glucose primed aortic endothelial cells through NF- $\kappa$ B and AP-1, *Pharmacological Research*, vol. 62, no. 4, pp. 328-336,
- Petruk G., Del Giudice, R., Rigano, M. M., & Monti, D. M. 2018, Antioxidants from Plants Protect against Skin Photoaging. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 1-11. doi:10.1155/2018/1454936
- Pittayapruek, P., Meephanan, J., Prapapan, O., Komine, M., & Ohtsuki, M. 2016, Role of matrix metalloproteinases in photoaging and photocarcinogenesis. *International journal of molecular sciences*, 17(6), 868.
- Poljsak B, Dahmane RG and Godic A. 2012, Intrinsic skin aging: the role of oxidative stress. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Ariat* 2012;21:33-6.
- Poon F, Kang S, Chien AL. 2015, Mechanisms and treatments of photoaging. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2015;31(2):65-74.
- Pratiwi, I.D.P.K., Wiadnyani, A.A.I.S. 2017, Capacity of Antioxidants and Flavonoids Simplicia Pegagan Leaves Powder. *Journal of Food Security and Agriculture*, Vol. 1 No. 2, August 2017, p-ISSN: 2549-6964
- Rahmawati, Y. D. & Prasetyawan, S. 2019, Effects of Oral and Topical Application of Centella asiatica Extracts on The UVB-Induced Photoaging of Hairless Rats. *The Journal of Pure and Applied Chemistry Research*, 8(1), 7-14.
- Reyes-Reyes, E. M., Jin, Z., Vaisberg, A. J., Hammond, G. B., & Bates, P. J. 2012, Physangulidine A, a Withanolide from *Physalis angulata*, Perturbs the Cell Cycle and Induces Cell Death by Apoptosis in Prostate Cancer Cells. *Journal of Natural Products*, 76(1), 2-7. doi:10.1021/np300457g
- Ridwan, E. 2013, *Etika pemanfaatan hewan percobaan dalam penelitian kesehatan*. J Indon Med Assoc, 63(3), 112-116
- Rittie L, Fisher GJ. 2015. *Natural and sun-induced aging of human skin*. Cold Spring Harb Perspect Med. 2015;5(1):015370
- Saewan, N., & Jimtaisong, A. 2013, Photoprotection of natural flavonoids. *J Appl Pharm Sci*, 3(9), 129-141
- Serafini, M. R., Detoni, C. B., Menezes, P. dos P., Pereira Filho, R. N., Fortes, V. S., Vieira, M. J. F., Araújo, A. A. 2014, UVA-UVB Photoprotective Activity of Topical Formulations Containing Morinda citrifolia Extract. *Biomed Research International*, 2014, 1-10.



- Scott, D. and Bennion, M.S., 2011, *Structure and Function of the Skin*. In: Fitzpatrick, J.E., Morelli, J.G., editors. *Dermatology Secret Plus*. Fourth Edition. Philadelphia: Elsevier Mosby. p.6-13.
- Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW 2012, NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods*. 9 (7): 671–675
- Sibilla, S., Godfrey, m., Brewer, S., Budh-Raja, A. and Genovese, L., 2015, *An Overview of the Beneficial Effects of Hydrolysed Collagen as a Nutraceutical on Skin Properties: Scientific Background and Clinical Studies*. [online] Benthamopen.com. Available at: <<https://benthamopen.com/contents/pdf/TONUTRAJ/TONUTRAJ-8-29.pdf>>
- Sofiah, A. S., & Lesmana, R. 2018, Astaxanthin cream alters type I procollagen and Matrix metalloproteinase-1 (MMP-1). *Journal of Biomedical and Clinical Sciences (JBSCS)*, 3(1), p 62-67.
- Shin, E. J., Lee, J. S., Hong, S., Lim, T. G., & Byun, S. 2019, Quercetin Directly Targets JAK2 and PKC $\delta$  and Prevents UV-Induced Photoaging in Human Skin. *International journal of molecular sciences*, 20(21), 5262, 1-11.
- Shin J, Kim JH, Kim EK. 2012, Repeated exposure of human fibroblasts to UVR induces secretion of stem cell factor and senescence. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2012;26(12):1577–80.
- Sibilla, S., Godfrey, M., Brewer, S., Budh-Raja, A., Licia, G. 2015, An overview of the beneficial effects of hydrolysed collagen as a nutraceutical on skin properties: scientific background and clinical studies. *Open Nutraceuticals J* 2015;8:29-42.
- Susanti, RF., Garini, S., Renaldo, IJ., Ananda, R., Stenny, A. 2013, *Ekstraksi Batang Physalis Angulata dengan Air Subkritis*. Laporan penelitian Universitas Katolik Parahyangan. III/LPPM/2013-03/03-P
- Tano, E. 2005. *Teknik Membuat Kosmetik dan Tip Kecantikan*. Rineka Cipta Bina Adiaksara, Jakarta. 979-518-736-8
- Sayama, A., Soushin, T., Okada, T., Doi, K., & Nakayama, H. 2010, Morphological and Biochemical Changes During Aging and Photoaging of the Skin of C57BL/6J Mice. *Journal of Toxicologic Pathology*, 23(3), 133–139. doi:10.1293/tox.23.133 .
- Tobin, D. J. 2017, Introduction to skin aging. *Journal of Tissue Viability*, 26(1), 37–46. doi:10.1016/j.jtv.2016.03.002
- Tungmunnithum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A., & Yangsriyai, A. 2018, Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. *Medicines*, 5(3), 93.
- Vanhooren, V., & Libert, C. 2013. The mouse as a model organism in aging research: usefulness, pitfalls and possibilities. *Ageing research reviews*, 12(1), p 8-21.
- Vashi NA, De Castro Maymone MB, Kundu RV. 2016, Aging differences in ethnic skin. *J Clin Aesthet Dermatol* 2016;9(1):31-8.
- Wahyono, P. 2013, Erek Ekstrak Buah Tomat (Lycopersicum Pycnolome) Terhadap Eksp Kolagen Tipe 1, MMP-1 Dan MMP-3 Pada Penuaan Kulit. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 24(3), 1-9
- Wahyono, P. 2020. Impact Of UV-B Rays On Photoaging. *Matrix*. 7(6), 143-147.
- Wang L., Zhang L., Li YX., Xu LQ., Li CL., 2016, *Aqueous Extract of Clerodendranthus spicatus Exerts Protective Effect on UV-Induced*





Lampiran 1

Output Hasil Analisis Data Kepadatan Kolagen

1. Uji Normalitas

Tests of Normality							
	Kelompok_Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kepadatan_Kolagen	Perlakuan I	.177	18	.143	.944	18	.336
	Perlakuan II	.123	18	.200	.974	18	.871

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Beda

Group Statistics					
	Kelompok_Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kepadatan_Kolagen	Perlakuan I	18	44.9746	7.60017	1.79138
	Perlakuan II	18	42.5307	11.86128	2.79573

Independent Samples Test

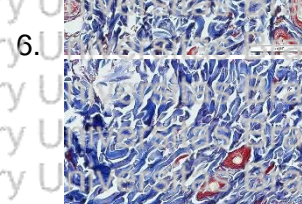
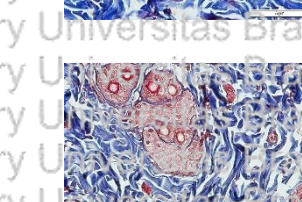
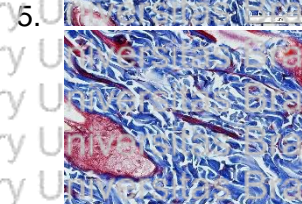
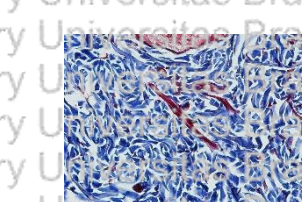
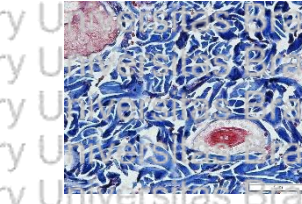
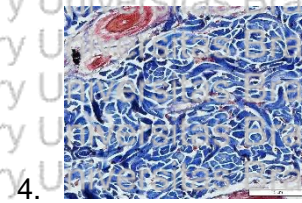
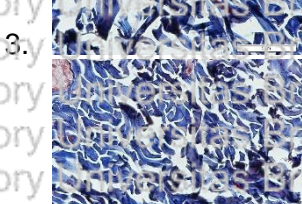
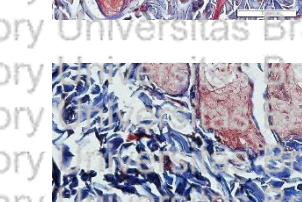
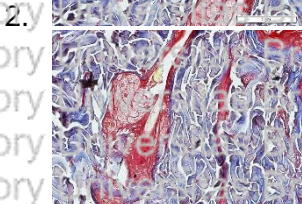
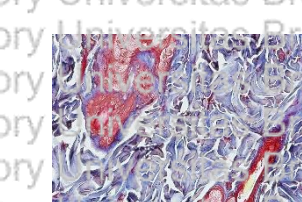
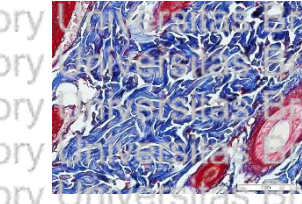
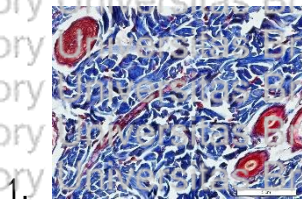
		Levene's Test for Equality of Variances				t-test for Equality of Means				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval	
									Lower	Upper
Kepadatan_Kolagen	Equal variances	2.319	.137	.736	34	.467	2.44339	3.32041	-4.30400	9.19178
	Equal variances			.736	28.946	.468	2.44339	3.32041	-4.34767	9.23545





Lampiran 2

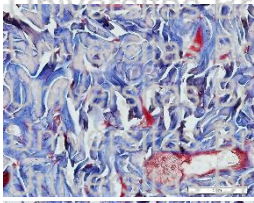
Gambaran Histopatologi Kulit *Rattus novergicus*



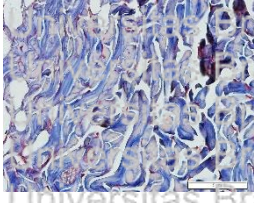




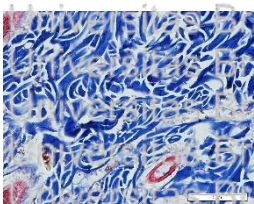
Repository Universitas Brawijaya



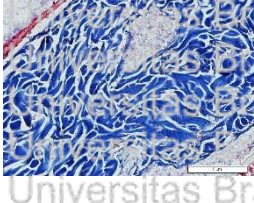
Repository Universitas Brawijaya



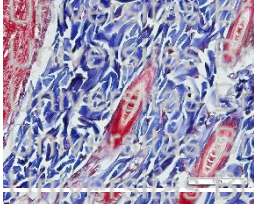
Repository Universitas Brawijaya



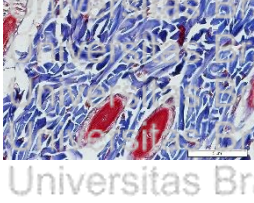
Repository Universitas Brawijaya



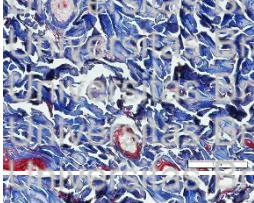
Repository Universitas Brawijaya



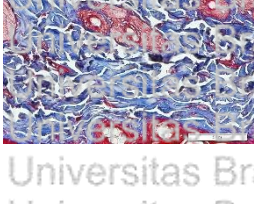
Repository Universitas Brawijaya



Repository Universitas Brawijaya

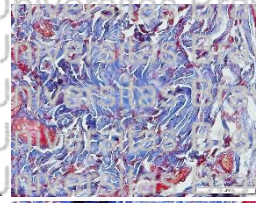


Repository Universitas Brawijaya

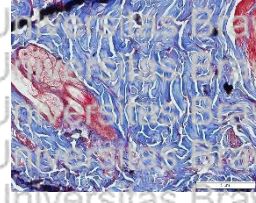


Repository Universitas Brawijaya

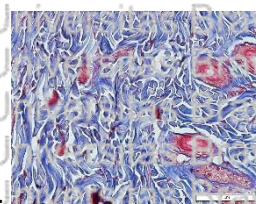
Repository Universitas Brawijaya



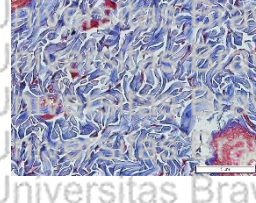
Repository Universitas Brawijaya



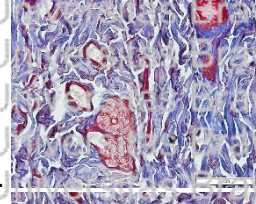
Repository Universitas Brawijaya



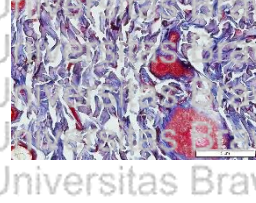
Repository Universitas Brawijaya



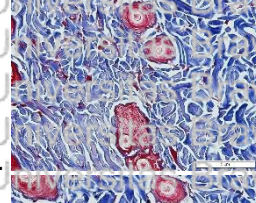
Repository Universitas Brawijaya



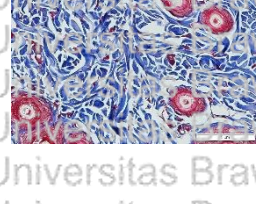
Repository Universitas Brawijaya



Repository Universitas Brawijaya



Repository Universitas Brawijaya



Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya







## Lampiran 3

Hasil Pengukuran Menggunakan *ImageJ*

No Perlakuan	Bidang pandang					Rerata
	1	2	3	4	5	
1	38,729	37,384	39,880	33,587	44,850	38,886
2	32,413	28,181	30,528	26,195	34,353	30,334
3	34,695	32,171	45,532	42,925	48,897	40,844
4	45,940	43,849	41,495	48,916	43,237	44,687
5	50,821	46,961	46,656	37,648	55,107	47,439
6	35,029	44,935	37,663	41,589	37,314	39,306
7	44,899	48,444	44,554	45,219	45,585	45,740
8	38,437	35,237	40,220	41,629	43,046	39,714
9	53,879	55,066	49,889	63,366	69,308	58,302
10	67,617	61,504	65,175	67,818	53,997	63,222
11	38,412	44,048	47,052	49,560	52,169	46,248
12	51,407	49,134	42,582	50,098	46,988	48,042
13	27,616	25,842	33,527	48,617	46,152	36,351
14	40,334	48,317	41,421	49,803	49,641	45,903
15	31,068	34,445	52,323	55,311	51,529	44,935
16	53,127	52,363	55,034	48,802	48,632	51,592
17	37,234	39,545	48,881	41,617	45,308	42,517
18	55,114	46,644	49,055	40,866	35,724	45,481
19	34,730	26,504	38,752	36,197	38,478	34,932
20	33,134	34,817	37,279	41,357	39,684	37,254
21	25,543	31,008	29,223	25,561	19,107	26,088
22	42,971	41,000	37,507	41,427	32,258	39,033
23	68,750	65,753	66,991	67,836	55,065	64,889
24	45,158	39,423	46,002	46,638	41,101	43,664
25	42,861	43,726	48,190	44,140	50,920	45,967
26	39,540	50,911	44,155	37,765	45,718	43,618
27	35,273	46,186	42,360	39,115	42,444	41,076
28	54,443	56,591	64,636	61,848	65,737	60,651
29	38,358	45,787	43,693	44,575	46,799	43,842
30	39,954	45,300	41,188	42,716	36,335	41,099
31	44,368	24,443	33,314	42,983	41,735	37,369
32	50,829	52,043	62,190	65,695	63,471	58,846
33	24,167	30,107	29,413	30,553	39,390	30,726
34	13,798	15,162	21,020	20,097	16,629	17,341
35	48,653	48,815	51,261	56,273	53,554	51,711
36	42,785	50,827	48,922	47,600	47,103	47,447



Lampiran 4

Keterangan Laik Etik



KOMISI ETIK PENELITIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
"ETHICAL CLEARANCE"

No: 038-KEP-UB-2021

KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG  
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:

PENELITIAN BERJUDUL : EFEK KRIM EKSTRAK DAUN *PHYSALIS ANGULATA*  
TERHADAP KEPADATAN KOLAGEN O KULIT *RATTUS*  
NORVEGICUS YANG DIINDUKSI RADIASI ULTRAVIOLET-B

PENELITI : AHMAD BAYU AJIE  
UNITA/EMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 16 April 2021



Prof. Dr. H. Aulianingrum, DES.  
NIP. 19500903 198802 2 001



Lampiran 5



KEMENTERIAN  
PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
SEKOLAH PASCASARJANA  
Jl. Mayjen Haryono 169, Malang 65145, Indonesia  
Telp. +62-341-571200, Fax: +62-341-580801  
http://ppsub.ub.ac.id E-mail: ppsub@ub.ac.id

**SURAT KETERANGAN BEBAS PLAGIASI**  
Nomor 217/JUN10.F40/PN/2022

Direktur Pascasarjana Universitas Brawijaya menyatakan bahwa Tesis

Nama : Ahmad Bayu Ajie  
NIM : 188071401111004  
Judul : Efek Krim Ekstrak Daun *Physalis angulata* L. Terhadap Kepadatan Kolagen Kulit *Rattus norvegicus* Yang Diinduksi Radiasi Ultraviolet-B  
Program studi : Pendidikan Dokter Spesialis Dermatologi dan Venereologi  
Fakultas : Fakultas Kedokteran

telah dideteksi tingkat plagiasinya dengan kriteria toleransi <5%, dan dinyatakan bebas dari plagiasi (Rincian hasil plagiasi terlampir)

Demikian surat ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

4 Februari 2022

Direktur

Tembusan:  
1. Ketua Program Studi yang bersangkutan NIP: 197101111990021001  
2. Pembimbing/Promotor

plagiarism detector

copying edge, dds, log, or, repetition, detection, ip, prevention

KEMENTERIAN  
PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
SEKOLAH PASCASARJANA

Nomor: 217/JUN10.F40/PN/2022  
Sertifikat ini diberikan kepada:

Nama : Ahmad Bayu Ajie  
NIM : 188071401111004  
Program Studi : Pendidikan Dokter Spesialis Dermatologi dan Venereologi  
Fakultas : Fakultas Kedokteran  
Universitas : Universitas Brawijaya

Dengan Judul Tesis  
**Efek Krim Ekstrak Daun *Physalis angulata* L. Terhadap Kepadatan Kolagen Kulit *Rattus norvegicus* Yang Diinduksi Radiasi Ultraviolet-B**  
Telah dideteksi tingkat plagiasinya secara online pada tanggal 4 Februari 2022 dan dinyatakan bebas plagiasi dengan kriteria toleransi <5%.

Direktur

Pro. Dr. Moh. Khusaini, S.E., M.Si., M.A. NIP. 197101111990021001  
Ketua Badan Penerbitan Jurnal

Indah Yanti, S.Si., M.Si. NIP. 197911292005012002

22.0045 T