

# PENGARUH KRIM EKSTRAK UBI UNGU (*Ipomoea Batatas* Var *Ayumurasaki*) TERHADAP MATRIKS METALLOPROTEINASE-1 DAN JUMLAH KOLAGEN DERMIS TIPE-I DAN TIPE-III (Penelitian Eksperimental Pada Mencit BALB/c yang Dipapar Sinar UV-B)

Yukke Nilla Permata<sup>1</sup>, Atina Husaana<sup>1</sup>, Chodidjah<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Magister Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung

\*Corresponding author: yukke\_nilla@yahoo.com

## ABSTRAK

**Latar Belakang** : Ubi ungu (*Ipomoea Batatas* Var *Ayumurasaki*) terbukti sebagai *antiaging* karena kandungan antosianin yang bersifat sebagai antioksidan. Antosianin termasuk antioksidan kuat yang dapat melindungi kulit dari radikal bebas. Penelitian mengenai mekanisme kerja ubi ungu ini masih terbatas. **Tujuan** : untuk mengetahui pengaruh krim ekstrak ubi ungu terhadap ekspresi MMP-1 dan Jumlah Kolagen Tipe-I dan Tipe-III.

**Metode** : Penelitian eksperimental menggunakan *post test randomized control group design*. Dilakukan pada 24 ekor mencit BALB/c yang dibagi 4 kelompok uji. Semua kelompok dipapar dengan sinar UV-B dengan dosis 1 MED (8 menit). Kelompok Kontrol (K) diolesi dengan basis krim, sedangkan tiga kelompok perlakuan lainnya diolesi dengan krim ekstrak ubi ungu dengan dosis 0,4%(P1), 4%(P2), dan 40%(P3) segera setelah paparan UV-B yang dilakukan selama 4 minggu. Ekspresi MMP-1 dihitung dari jumlah total fibroblast yang mengekspresikan MMP-1. Ekspresi MMP-1 dan Jumlah Kolagen Tipe-I dan Tipe-III dilakukan dengan pengecatan imunohistokimia. Ekspresi MMP-1 dianalisis dengan *One Way Anova* dan Post hoc pada tingkat kemaknaan  $p < 0,05$

**Hasil** : Ekspresi MMP-1 antara kelompok K, P1, P2, dan P3 berturut-turut adalah  $(40,16 \pm 4,62)$ ,  $(35,83 \pm 3,06)$ ,  $(28,16 \pm 2,78)$ ,  $(18,50 \pm 2,42)$  memiliki perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ ). Jumlah Kolagen Tipe-I antara kelompok K, P1, P2, dan P3 berturut-turut adalah  $(48,67 \pm 4,58)$ ,  $(55,50 \pm 4,80)$ ,  $(64,33 \pm 3,55)$ ,  $(67,50 \pm 4,18)$  memiliki perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ ). Jumlah Kolagen Tipe-III antara kelompok K, P1, P2, dan P3 berturut-turut adalah  $(11,83 \pm 1,32)$ ,  $(16,16 \pm 0,98)$ ,  $(19,67 \pm 1,36)$ ,  $(22,00 \pm 1,09)$  memiliki perbedaan yang signifikan antar kelompoknya ( $p < 0,05$ ).

**Kesimpulan** : krim ekstrak ubi ungu berpengaruh terhadap ekspresi MMP-1 dan Jumlah Kolagen Tipe-I dan Tipe-III pada mencit BALB/c yang dipapar sinar UV-B.

**Kata kunci** : Ubi Ungu, MMP-1, Jumlah Kolagen Tipe-I, Jumlah Kolagen Tipe-III

## ABSTRACT

Purple sweet potato (*Ipomoea Batatas* Var *Ayumurasaki*) is proven to be *antiaging* because of it is anthocyanin content which is an antioxidant. The antioxidant effects of anthocyanins include powerful antioxidants that protect the skin from free radicals. The mechanism of purple sweet potato's work on the expression MatrixMetalloproteinase-1 (MMP-1) and the Number of Type-I and Type-III Collagen is still limited. The purpose of this study was to determine the purple sweet potato extract cream on expression of MMP-1 and Number of Type-I and Type-III Collagen.

Experimental research using randomized control group design post test. Performed in 24 mice BALB/c were divided four groups test. All groups were exposed to UV-B rays at a dose of 1 MED (8 minutes). The Control Group (K) spread with a base cream, while the other three groups were smeared with cream of purple sweet potato extract at a dose of 0.4% (P1), 4% (P2), and 40% (P3) immediately after exposure to UV-B for four weeks. Expression of MMP-1 was calculated from the total from fibroblasts cells that express MMP-1. Expression of MMP-1 and Number of Type-I and Type-III Collagen by immunohistochemical staining. Expression of MMP-1 was analyzed by One Way Anova and Post hoc at a significance level of  $p < 0.05$

Expression of MMP-1 between group C, P1, P2, and P3 are  $(40.16 \pm 4.62)$ ,  $(35.83 \pm 3.06)$ ,  $(28.16 \pm 2.78)$ ,  $(18.50 \pm 2.42)$  had a significant difference ( $p < 0.05$ ). Number of Type-I Collagen between group C, P1, P2, P3 are  $(48.67 \pm 4.58)$ ,  $(55.50 \pm 4.80)$ ,  $(64.33 \pm 3.55)$ ,  $(67.50 \pm 4.18)$  had a significant difference ( $p < 0.05$ ). Number of Type-III Collagen between groups C, P1, P2, P3 are  $(11.83 \pm 1.32)$ ,  $(16.16 \pm 0.98)$ ,  $(19.67 \pm 1.36)$ ,  $(22.00 \pm 1.09)$  had a significant difference between groups ( $p < 0.05$ ).

The conclusion of this study is the purple sweet potato extract cream effects on the expression of MMP-1 and the number of Type-I and Type-III Collagen in BALB /c mice were exposed to UV-B rays.

**Keyword :** Purple sweet potato, MMP-1, Number of Type-I Collagen, Number of Type-III Collagen

## Pendahuluan

Penuaan atau *aging process* adalah suatu proses menghilangnya kemampuan jaringan secara perlahan-lahan untuk memperbaiki dan mempertahankan fungsi normalnya, sehingga tidak dapat bertahan terhadap infeksi dan memperbaiki kerusakan (Karlsen dkk,2007). Kecepatan proses penuaan dipengaruhi oleh faktor intrinsik maupun ekstrinsik. Faktor intrinsik antara lain genetik, hormonal dan ras sedangkan faktor ekstrinsik salah satunya adalah sinar ultraviolet (UV) (Thappa D dkk,2012). Proses penuaan erat hubungannya dengan radikal bebas (Yaar ,dkk,2012).

Penggunaan antioksidan diketahui dapat mencegah kerusakan kulit akibat paparan sinar UV-B. Ada berbagai upaya dalam mencegah penuaan dini antara lain dengan bedah kosmetik, laser, maupun penggunaan krim Majunya perkembangan jaman menyebabkan semakin banyak bermunculan produk-produk krim perawatan di masyarakat. Apabila penggunaannya tidak tepat dapat menyebabkan penipisan kulit, kulit kering hingga resiko penuaan dini (Amend,dkk,2012). Banyak wanita yang menggunakan berbagai kosmetika dan

teknologi perawatan kulit yang sedang *trend* di masyarakat tanpa memperhatikan efek samping yang negatif. Pemakaian krim yang mengandung bahan kimia seperti hidrokuinon, asam retinoat dan merkuri dapat menimbulkan efek samping jangka panjang.

Ubi Ungu mengandung komponen metabolit sekunder flavonoid berupa antosianin yang memiliki aktifitas antioksidan yang tinggi dibandingkan  $\alpha$ - tokoferol (Sulastri,dkk,2013). Ditemukan bukti bahwa antosianin memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dalam mencegah penuaan dini pada kulit (Dipahayu,dkk,2013). Secara alami, kulit bergantung pada antioksidan untuk melindungi dari *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dihasilkan oleh sinar UV maupun proses metabolisme normal. Namun oleh karena paparan UV yang berlebihan, mengakibatkan terjadi depleksi pada suplai antioksidan tersebut, terbentuklah suatu keadaan stress oksidatif. Adanya ROS pada kulit akibat radiasi sinar UV meningkatkan ekspresi MMP-1, yang kemudian MMP-1 akan memecah kolagen tipe I dan kolagen tipe III. Kerusakan kolagen tipe I akan menyebabkan turunnya produksi kolagen

sehingga menimbulkan keriput pada kulit. (Bauman L, 2010) Oleh karena itu diperlukan antioksidan yang diaplikasikan secara topikal untuk menambah cadangan antioksidan kulit (Pinnel SR, 2013).

### **Metode**

Penelitian yang dilakukan ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *the randomized post-test only control group*, dengan menggunakan hewan coba Mencit BALB/c sebagai objek penelitian.

Hewan coba dalam penelitian ini menggunakan 24 ekor mencit yang berusia 6-8 minggu dengan berat badan rata-rata 18-35 gram/ekor, diperoleh dari Laboratorium Biologi FK UNISSULA Semarang. Perlakuan pada hewan coba dilakukan di Laboratorium Biologi FK UNISSULA Semarang periode Maret-April 2018.

Jumlah Sampel minimal dihitung berdasarkan rumus Federer ( $r = \text{jumlah sampel}$ ;  $t = \text{jumlah perlakuan}$ ) dan diperoleh jumlah sampelnya sebanyak 24 ekor hewan coba dengan masing-masing kelompok terdapat cadangan 1 ekor hewan coba.

Kriteria inklusi pada hewan coba tersebut yaitu Mencit BALB/c betina, Usia 6-8 minggu karena usia mencit 6-8 minggu memiliki persamaan struktur dengan manusia usia dewasa muda dan belum mengalami proses penuaan intrinsik, berat

badan 18-35 gram, mencit dalam keadaan sehat, memiliki aktifitas dan tingkah laku yang sehat, dan tidak memiliki kelainan anatomis. Sedangkan Kriteria drop out yaitu apabila mencit mengalami kematian pada saat penelitian.

Mencit yang akan digunakan dalam penelitian harus memenuhi kriteria inklusi terlebih dahulu. Kemudian sebelum digunakan dalam penelitian, mencit diadaptasikan di dalam kandang selama 1 minggu. Dari total 24 ekor mencit diambil secara random untuk dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol yang dioleskan krim dasar, kelompok perlakuan diolesi dengan krim ekstrak ubi ungu sebesar 0,4%; 4%; dan 40%. Mencit BALB/c setiap hari diletakkan di dalam kandang yang kandang pemeliharaan dengan atap dari kawat, dilengkapi dengan tempat makanan dan minuman dan disediakan satu kandang untuk tiap kelompok perlakuan yang berbeda setiap tikus, yaitu tiap kandang berisi 6 tikus. Kualitas dan kuantitas makanan diberikan secukupnya. Kemudian dilakukan pencukuran punggung mencit sebesar 2x3 cm yaitu area yang merupakan tempat penyinaran sinar UV-B.

Penyinaran UV-B dilakukan selama 4 minggu dimana setiap minggunya dilakukan 5x dengan dosis penyinaran 1 MED (8 menit) dengan jarak

penyinaran dari sumber UV-B ke punggung mencit adalah 40 cm.

Pengaplikasian krim ekstrak ubi ungu dilakukan 2 kali yaitu 20 menit sebelum paparan (untuk memberikan waktu absorbs krim ke dalam kulit) dan 4 jam setelah paparan sinar UV-B (mulai terbentuknya ROS). Kemudian jaringan kulit punggung mencit di insisi dan dilakukan imunohistokimia untuk melihat ekspresi MMP-1, Kolagen tipe-I dan kolagen tipe-III.

Penelitian ini dilakukan setelah mendapat persetujuan Ethical Clearance FK Unissula Semarang dengan No. 14/I/2018/Komisi Bioetik.

#### Analisis Data

Data dikumpulkan dan disajikan dalam bentuk statistik, kemudian dilakukan uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk, karena sampel < 50 dan uji homogenitas menggunakan Levene 's test.

Analisis komparasi ekspresi MMP-1 dilakukan dengan uji One-Way Anova karena data berdistribusi normal dan homogen kemudian dilanjutkan dengan Post-Hoc dengan uji Bonferoni. Sedangkan analisis jumlah kolagen tipe I dan tipe III dilakukan uji Kruskal-Wallis karena distribusi data tidak normal kemudian dilanjutkan dengan Post Hoc dengan uji Mann-Whitney (Dahlan, 2014).

#### Hasil

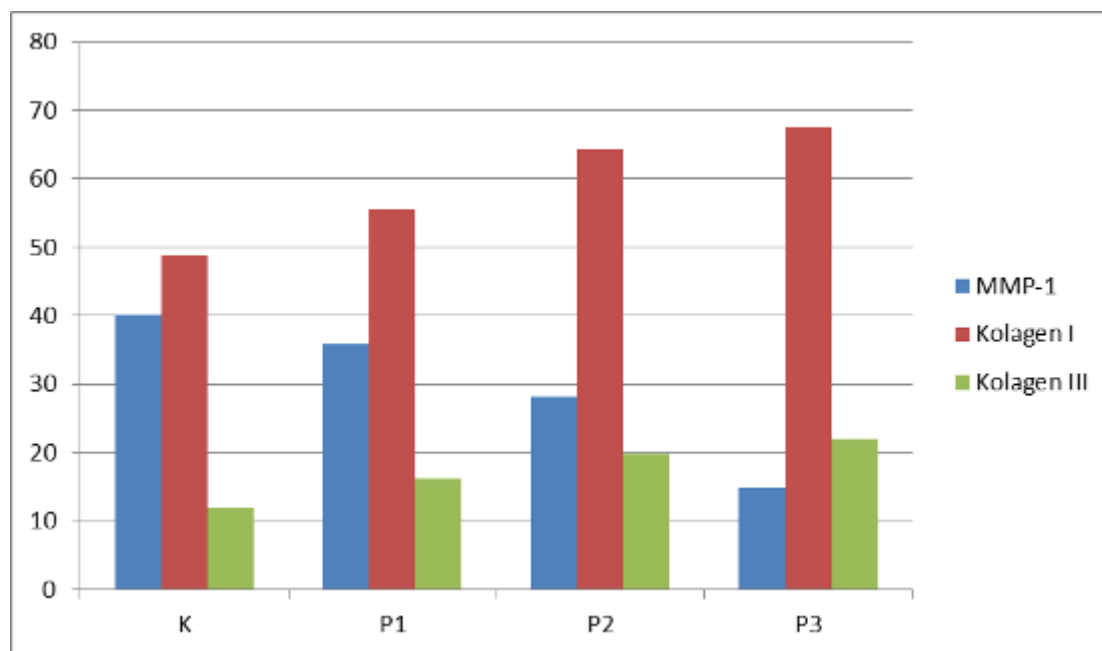
Penelitian untuk mengetahui pengaruh krim ekstrak ubi ungu terhadap MMP-1 dan Jumlah kolagen Tipe I dan Tipe III ini menggunakan 24 ekor mencit BALB/c yang dibagi menjadi 4 (empat) kelompok. Kelompok Kontrol dipapar sinar UV-B kemudian diolesi basis krim, sedangkan kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 diolesi krim ekstrak ubi ungu dengan dosis 0,4%, 4%, dan 40%. Data Hasil penelitian ditunjukkan pada Tabel 1

Tabel 1. Data Hasil Penelitian

VARIABEL	KELOMPOK				
	Kontrol negatif	P1 (ubi ungu 0,4%)	P2 (ubi ungu 4%)	P3 (ubi ungu 40%)	P
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	
MMP-1	40,16±4,62	35,83±3,06	28,16±2,78	18,50±2,42	
<i>Saphiro wilk</i>	0,256	0,860	0,540	0,230	> 0,05*
<i>Lavene test</i>					0,206**
<i>One Way Anova</i>					0,000***

<b>Kolagen I</b>	48,67±4,58	55,50±4,80	64,33±3,55	67,50±4,18	
<i>Saphiro Wilk</i>	0,072	0,001	0,378	0,006	< 0,05*
<i>Kruskal Wallis</i>					0,000***
<b>Kolagen III</b>	11,83±1,32	16,16±0,98	19,67±1,36	22,00±1,09	
<i>Saphiro Wilk</i>	0,065	0,031	0,093	0,004	< 0,05*
<i>Kruskal Wallis</i>					0,000***

Keterangan : \*Shapiro Wilk \*\*Lavene test \*\*\*Kruskal Wallis



Gambar 1. Ekspresi MMP-1 dan Jumlah Kolagen Tipe I dan Tipe III

Nilai rata-rata ekspresi MMP-1 tertinggi ditunjukkan oleh kelompok Kontrol (40,16±4,62) sedangkan ekspresi MMP-1 terendah ditunjukkan oleh kelompok P3 (18,50±2,42). Ekspresi MMP-1 pada ketiga kelompok perlakuan krim ekstrak ubi ungu menunjukkan angka yang signifikan dan *trend yang* menurun. Ekspresi MMP-1 pada kelompok tersebut dilakukan analisis sebaran normalitas datanya menggunakan uji *Saphiro Wilk*. Dari hasil uji normalitas menggunakan

*Saphiro Wilk* didapatkan nilai p pada masing-masing kelompok adalah >0,05 yang berarti bahwa sebaran data ekspresi MMP-1 pada keempat kelompok tersebut berdistribusi normal.

Hasil uji homogenitas data pada keempat kelompok tersebut dengan menggunakan *Lavene test* menghasilkan nilai p sebesar 0,206 (>0,05). Hasil tersebut menunjukkan bahwa varian data ekspresi MMP-1 antar kelompok homogen. Data hasil ekspresi MMP-1 berdistribusi normal dan homogen menjadi

dasar untuk penggunaan uji parametrik *One Way Anova* untuk mengetahui perbedaan rata-rata ekspresi MMP-1 pada keempat kelompok. Hasil uji *One Way Anova* didapatkan p sebesar 0,000 yang berarti terdapat perbedaan bermakna

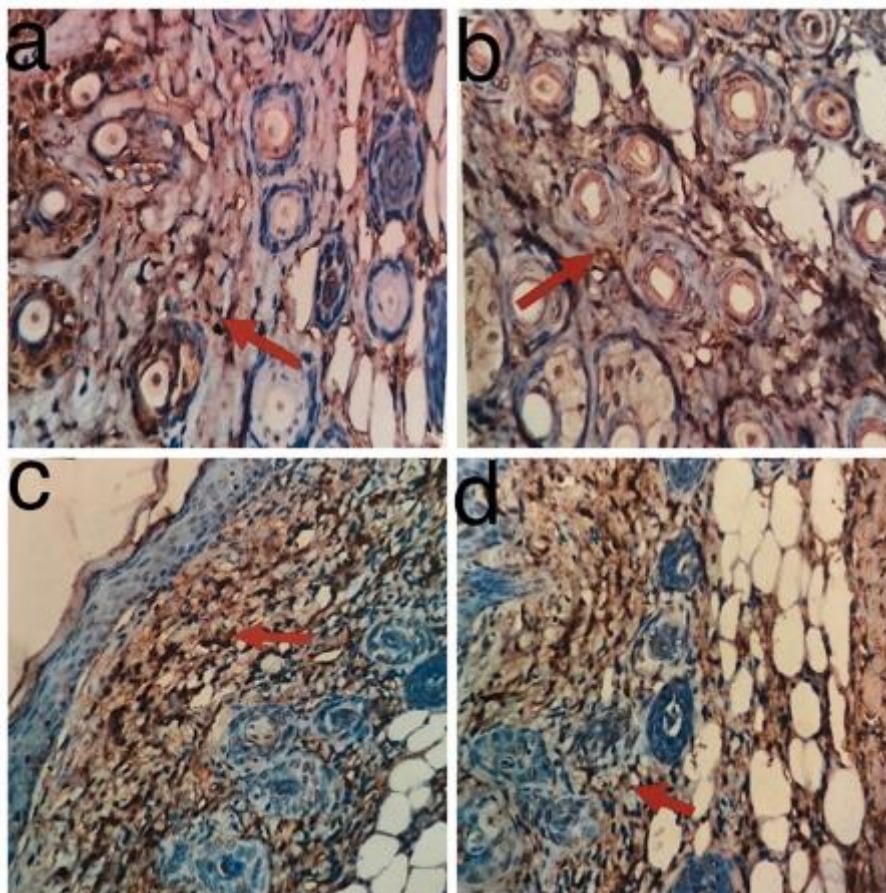
ekspresi MMP-1 setidaknya pada dua kelompok.

Perbedaan kemaknaan ekspresi MMP-1 antar dua kelompok ditunjukkan dengan hasil uji *Post hoc* adalah sebagai berikut :

Tabel 2. Perbedaan rerata ekspresi MMP-1 antar dua kelompok dengan uji *Post hoc*

Kelompok	K negatif	P1 (ubi ungu 0,4%)	P2 (ubi ungu 4%)	P3 (ubi ungu 40%)
K negatif	-	0,214	0,000*	0,000*
P1 (ubi ungu 0,4%)	0,214	-	0,004*	0,000*
P2 (ubi ungu 4%)	0,000*	0,004*	-	0,000*
P3 (ubi ungu 40%)	0,000*	0,000*	0,000*	-

Keterangan: \* Signifikan  $p < 0,05$



Gambar 2 Ekspresi MMP-1 Pada jaringan dermis mencit dengan menggunakan teknik imnohistokimia (perbesaran 400x). (a) Kelompok control, (b) Kelompok Krim ekstrak ubi ungu 0,4%, (c) Kelompok krim ekstrak ubi ungu 4%, (d) Kelompok krim ekstrak ubi ungu 40%. Tanda panah berwarna merah menunjukkan sel fibroblast yang mengekspresikan MMP-1 berwarna coklat di dalam sitoplasma

Hasil uji *Post hoc* ekspresi MMP-1 diperoleh  $p < 0,05$  pada perbandingan antar dua kelompok yaitu kontrol dengan P2, kontrol dengan P3, P1 dengan P2, P1 dengan P3, P2 dengan P3 menunjukkan bahwa pemberian krim ekstrak ubi ungu berpengaruh menurunkan ekspresi MMP-1 pada perlakuan P2 dan P3. Sedangkan Hasil uji *Post hoc* ekspresi MMP-1 diperoleh  $p > 0,05$  pada perbandingan antar dua kelompok yaitu kontrol dengan P1. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian krim ekstrak ubi ungu pada dua kelompok tersebut menurunkan ekspresi MMP-1 namun tidak signifikan perbedaannya. Gambaran hasil pengamatan ekspresi MMP-1 ditunjukkan pada Gambar 2.

Nilai rata-rata jumlah kolagen tipe-I terendah ditunjukkan oleh kelompok P1 ( $48,67 \pm 4,58$ ) sedangkan rata-rata jumlah kolagen tipe-I yang tertinggi ditunjukkan oleh kelompok P3 ( $67,50 \pm 4,18$ ). Jumlah kolagen tipe-I pada ketiga kelompok perlakuan krim ekstrak ubi ungu menunjukkan *trend* meningkat. Kemudian dilakukan analisis sebaran normalitas datanya menggunakan uji *Saphiro Wilk*, dan didapatkan nilai  $p$  pada masing-

masing kelompok  $< 0,05$  yang berarti bahwa sebaran data jumlah kolagen tipe-I pada keempat kelompok tersebut tidak normal.

Data hasil jumlah kolagen tipe-I yang tidak normal menjadi dasar untuk penggunaan uji non parametrik *Kruskal Wallis* untuk mengetahui perbedaan rata-rata jumlah kolagen tipe-I pada keempat kelompok yang berbeda tersebut. Hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan  $p$  sebesar 0,000 yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang signifikan setidaknya pada dua kelompok yang berbeda. Kebermaknaan perbedaan jumlah kolagen tipe-I antar dua kelompok ditunjukkan dengan hasil uji *Post hoc Mann Whitney*.

Hasil uji *Post hoc Mann Whitney* pada Jumlah Kolagen Tipe-I diperoleh nilai  $p$  sebesar  $< 0,05$  pada perbandingan kelompok antara Kontrol dengan P1, Kontrol dengan P2, Kontrol dengan P3, P1 dengan P2, dan P1 dengan P3. Ini menunjukkan bahwa pemberian krim ekstrak ubi ungu berpengaruh signifikan dalam meningkatkan Jumlah Kolagen Tipe-I, sedangkan Jumlah Kolagen Tipe-I antar kelompok P2 dengan P3 diperoleh

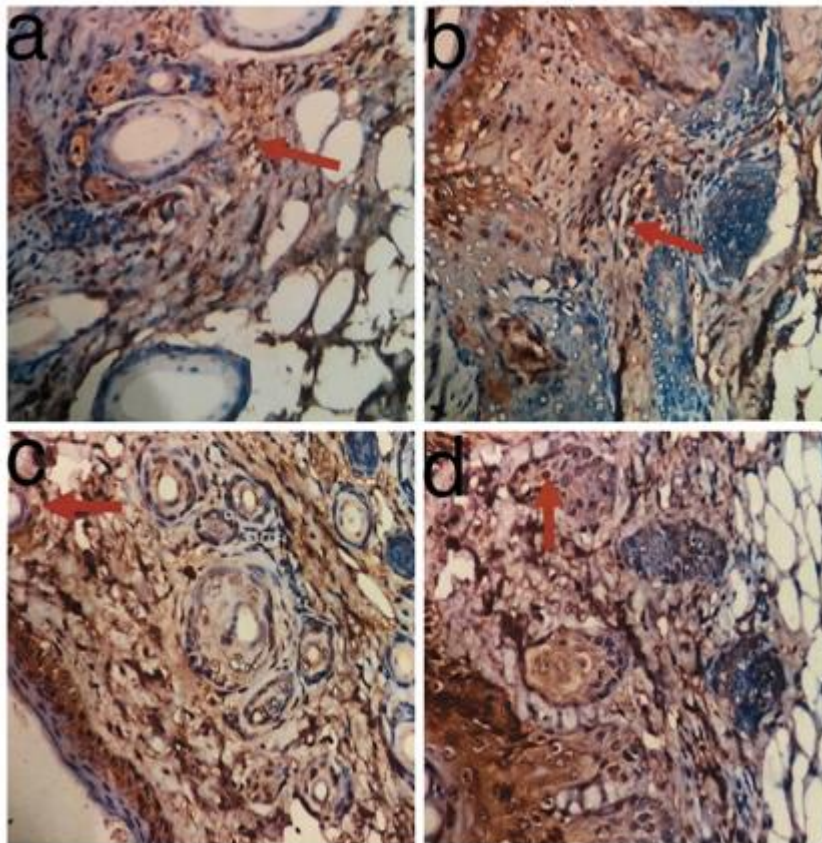
nilai  $p > 0,05$ . Hasil ini menunjukkan pemberian krim ekstrak ubi ungu pada P2 dan P3 tidak memberikan perbedaan yang signifikan. Gambaran hasil pengamatan

Jumlah Kolagen Tipe-I ditunjukkan pada Gambar 3.

Tabel 3 Perbedaan rerata jumlah kolagen tipe-I antar dua kelompok dengan uji Post hoc *Mann Whitney*

Kelompok	K negatif	P1 (ubi ungu 0,4%)	P2 (ubi ungu 4%)	P3 (ubi ungu 40%)
K negatif	-	0,016*	0,004*	0,003*
P1(ubi ungu 0,4%)	0,016*	-	0,016*	0,006*
P2(ubi ungu 4%)	0,004*	0,016*	-	0,175
P3(ubi ungu 40%)	0,003*	0,006*	0,175	-

Keterangan: \* Signifikan  $p < 0,05$





Gambar 3 Jumlah Kolagen Tipe-I Pada jaringan dermis mencit dengan menggunakan teknik imnohistokimia (perbesaran 400x). (a) Kelompok Kontrol, (b) Kelompok Krim ekstrak ubi ungu 0,4%, (c) Kelompok krim ekstrak ubi ungu 4%, (d) Kelompok krim ekstrak ubi ungu 40%. Warna coklat pada anak panah menunjukkan ekspresi Kolagen Tipe-I.

Nilai rata-rata Jumlah Kolagen Tipe-III terendah ditunjukkan oleh kelompok P1 ( $11,83 \pm 1,32$ ) sedangkan rata-rata Jumlah Kolagen Tipe-III yang tertinggi ditunjukkan oleh kelompok P3 ( $22,00 \pm 1,09$ ). Jumlah Kolagen Tipe-III pada ketiga kelompok perlakuan krim ekstrak ubi ungu menunjukkan *trend* yang meningkat. Jumlah Kolagen Tipe-III pada kelompok tersebut dilakukan analisis sebaran normalitas datanya menggunakan uji *Saphiro Wilk*. Dari hasil uji normalitas menggunakan *Saphiro Wilk* didapatkan nilai p pada masing-masing kelompok adalah  $<0,05$  yang berarti bahwa sebaran data Jumlah Kolagen Tipe-III pada keempat kelompok tersebut tidak normal.

Data hasil Jumlah Kolagen Tipe-III yang tidak normal menjadi dasar untuk penggunaan uji non parametrik *Kruskal Wallis* untuk mengetahui perbedaan rata-rata jumlah Kolagen Tipe-III pada

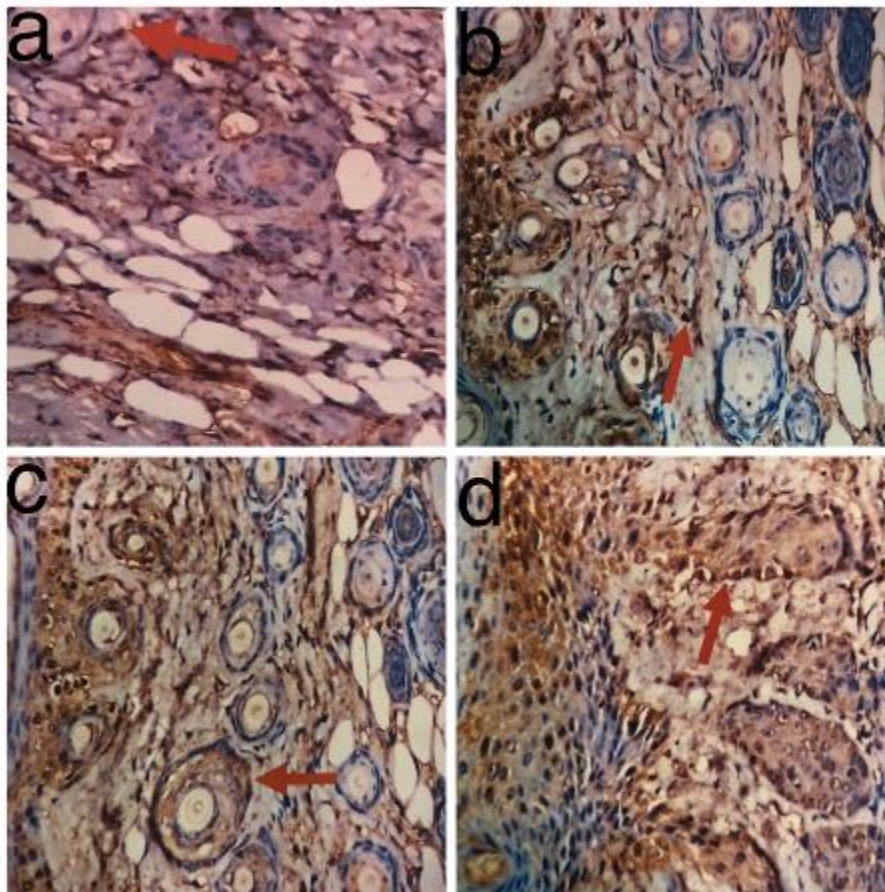
keempat kelompok tersebut. Hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan p sebesar 0,000 yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna Jumlah Kolagen Tipe-III setidaknya pada dua kelompok yang berbeda. Kebermaknaan perbedaan Jumlah Kolagen Tipe-III antar dua kelompok ditunjukkan dengan hasil uji Post hoc *Mann Whitney* dicantumkan pada table 4. : Hasil uji Post hoc *Mann Whitney* Jumlah Kolagen Tipe-III diperoleh nilai p sebesar  $<0,05$  pada semua perbandingan antar dua kelompok, ini menunjukkan bahwa pemberian krim ekstrak ubi ungu berpengaruh meningkatkan Jumlah Kolagen Tipe-III, pola peningkatan yang ditunjukkan adalah dimana semakin tinggi dosis menghasilkan peningkatan Jumlah kolagen Tipe-III yang semakin tinggi pula. Gambaran hasil pengamatan Jumlah Kolagen Tipe-III ditunjukkan pada Gabar 4.

Tabel 4 Perbedaan rerata Jumlah Kolagen Tipe-III antar dua kelompok dengan uji Post hoc *Mann Whitney*

Kelompok	K negatif	P1 (ubi ungu 0,4%)	P2 (ubi ungu 4%)	P3 (ubi ungu 40%)
----------	-----------	--------------------	------------------	-------------------

K negatif	-	0,003*	0,003*	0,003*
P1(ubi ungu 0,4%)	0,003*	-	0,005*	0,003*
P2(ubi ungu 4%)	0,003*	0,005*	-	0,012*
P3(ubi ungu 40%)	0,003*	0,003*	0,012*	-

Keterangan: \* Signifikan  $p < 0,05$



Gambar 4 Jumlah Kolagen Tipe-III Pada jaringan dermis mencit dengan menggunakan teknik imnohistokimia (perbesaran 400x). (a) Kelompok Kontrol, (b) Kelompok Krim ekstrak ubi ungu 0,4%, (c) Kelompok krim ekstrak ubi ungu 4%, (d) Kelompok krim ekstrak ubi ungu 40%. Warna coklat pada anak panah menunjukkan ekspresi Kolagen Tipe-III.

### Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh gambaran ekspresi MMP-1 pada kelompok yang diberi krim ekstrak ubi ungu dalam berbagai dosis yaitu 0,4%,

4%, dan 40% menunjukkan bahwa ekspresi MMP-1 yang dihasilkan tersebut tampak lebih rendah daripada kelompok kontrol. Hal tersebut menunjukkan bahwa ketiga dosis krim ekstrak ubi ungu tersebut berpengaruh secara signifikan terhadap

penurunan ekspresi MMP-1 pada mencit balb/c yang terkena paparan sinar UV-B. Pola penurunan ekspresi MMP-1 yang ditunjukkan adalah *dose dependent manner*, dimana dosis krim ekstrak ubi ungu yang tertinggi sebesar 40% dapat menghasilkan penurunan ekspresi MMP-1 yang juga tertinggi. Hal tersebut disebabkan karena semakin besar dosis krim berarti kandungan antosianin yang terdapat pada ubi ungu sebagai antioksidan juga semakin besar sehingga dapat menghambat peningkatan ekspresi MMP-1.

MMPs juga bertanggungjawab terhadap degradasi matriks ekstrasel yaitu kolagenase (MMP-1), stromyelin-1 (MMP-3), 92-kd gelatinase (MMP-9) dan dapat meningkat kadarnya akibat paparan sinar UV-B (Quan, dkk, 2009). Namun pada kulit, yang paling banyak dipicu pembentukannya oleh sinar UV-B dan paling bertanggungjawab terhadap pemecahan kolagen akibat paparan sinar UV-B adalah MMP-1 (Seltzer, dkk, 2008). Hal ini sesuai dengan yang ditunjukkan dalam studi Uito *et al.* Pada studi tersebut bahwa secara *in vivo* paparan sinar UV dapat meningkatkan MMP-1. Penelitian yang dilakukan oleh Wlascheck juga menunjukkan bahwa ekspresi MMP-1 secara *in vivo* adalah akibat dari iradiasi sinar UV-B (Hoffman, 2013). Paparan UV-B dapat meningkatkan aktivitas MMP

dan menyebabkan kulit akan kehilangan elastisitas, lebih tipis, dan kasar (Gudono, 2017). Radiasi sinar UV-B dapat menginduksi stress oksidatif sebagai produk radikal bebas (ROS) sehingga dapat mempengaruhi penuaan pada kulit. Ubi ungu termasuk dalam golongan flavonoid yang mengandung antosianin yang bertindak sebagai antioksidan sehingga dapat menangkal radikal bebas

Pada *photoaging*, terdapat substansi-substansi penting yang akan dilepaskan pada saat terjadi paparan UV-B antara lain sitokin-sitokin proinflamasi dan MMP. Prostaglandin (PG) dan leukotriene (LT) merupakan mediator proinflamasi lipid yang dapat tersintesis akibat paparan UV-B pada kulit. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa prostaglandin E2 (PGE2), cyclooxygenase-2 (COX-2) berhubungan dengan radiasi UV-B yang dapat menginduksi ekspresi MMP pada kulit manusia. Penelitian yang dilakukan oleh Kim dkk menunjukkan bahwa kaskade BLT2-ROS-ERK-linked merupakan mekanisme signaling baru pada upregulasi MMP-1 akibat paparan sinar UV-B yang memberikan pengaruh pada proses *photoaging*. Mediator upregulasi MMP-1 akibat paparan sinar UV-B terdiri dari LeukotrienB4 (LTB4) dan 12(S)-hydroxyeicosatetraonic acid (12(S)-HETE) yang merupakan reseptor dari BLT2 (Twinning, 1994).

Ubi ungu mengandung antosianin sebagai antioksidan bekerja dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*) seperti superoksid ( $O_2^-$ ), singlet oksigen ( $O_2$ ), peroksida ( $ROO^-$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan radikal hidroksil ( $OH\cdot$ ) (Wang,dkk,2008). Dengan begitu antosianin mampu menghambat terbentuknya ROS akibat radikal bebas dari radiasi sinar UV terhadap kulit dan menghambat peningkatan MMP-1 (Shipp,dkk,2010).

Penelitian ini juga menunjukkan bahwa pemberian krim ekstrak ubi ungu berpengaruh terhadap peningkatan jumlah kolagen dermis tipe I dan tipe III, jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini dapat terjadi karena ekstrak ubi ungu dapat menghambat aktivitas MMP-1 sehingga degradasi kolagen baik tipe I maupun tipe III dapat dihambat. Induksi kolagenase (MMP-1) akibat paparan sinar UV-B merupakan faktor penting hilangnya serat kolagen (Zaluski,2009).

Mekanisme terjadinya penurunan kolagen tipe I diawali dari peningkatan jumlah faktor transkripsi c-jun dan c-fos akibat paparan sinar UV. Faktor transkripsi c-jun dan c-fos ini kemudian memicu terbentuknya activator protein-1 (AP-1) sehingga dapat mengaktifasi MMP yang

dapat menghasilkan kolagenase, gelatinase dan stromyelin. Paparan UV-B yang terjadi secara terus menerus dapat menyebabkan kolagenase mendegradasi kolagen secara berkelanjutan sehingga kolagen yang tidak terorganisir akan semakin banyak dan semakin menumpuk pada kulit yang menua akibat dari *photoaging* (Wang, 2008).

Paparan sinar UV-B dapat menyebabkan akumulasi radikal bebas sehingga terbentuk ROS. Kemudian ROS dapat memicu pelepasan sitokin proinflamasi dan faktor-faktor pertumbuhan yang kemudian mengaktifasi AP-1 dan faktor nuklir-kappa B (NF-kB) sehingga dapat meningkatkan matriks metalloproteinase (MMP) antara lain MMP-1, MMP-3, MMP-8, dan MMP-9. Matriks metalloproteinase tersebut dapat mendegradasi kolagen dan serat elastin dari matriks ekstraseluler. Induksi ROS akibat paparan sinar UV-B dapat menyebabkan penurunan *transforming growth-β* ( $TGF-\beta$ ) yang juga memiliki pengaruh terhadap penurunan produksi kolagen dan peningkatan produksi serat elastin. antosianin bekerja dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*) seperti superoksid ( $O_2^-$ ), singlet oksigen ( $O_2$ ), peroksida ( $ROO^-$ ), hidrogen peroksida

(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) dan radikal hidroksil (OH.) (Wang,2008). Dengan begitu antosianin mampu menghambat terbentuknya ROS akibat radikal bebas dari radiasi sinar UV terhadap kulit (Shipp,2010).

Pemberian krim ekstrak ubi ungu mempengaruhi peningkatan jumlah kolagen tipe I dan jumlah kolagen tipe III melalui efek penurunan MMP-1 yang dihasilkan oleh zat antioksidan yang terkandung di dalam krim ekstrak ubi ungu yaitu antosianin. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh jumlah kolagen tipe I dan kolagen tipe III pada kelompok yang diberikan krim ekstrak ubi ungu 0,4%, 4%, dan 40 % menunjukkan hasil yang lebih tinggi daripada kelompok kontrol. Hal tersebut menunjukkan bahwa ketiga dosis krim ekstrak ubi ungu berpengaruh terhadap jumlah kolagen tipe I dan tipe III pada mencit balb/c yang terkena paparan sinar UV-B. Dosis tertinggi (40%) menghasilkan peningkatan jumlah kolagen tipe I dan tipe III yang juga tertinggi. Hal tersebut disebabkan karena jumlah zat aktif yang diabsorpsi pada setiap satuan luas permukaan kulit sebanding dengan gradient konsentrasi zat aktif tersebut dalam media pembawa. Jumlah kolagen tipe I antar kelompok P2(4%) dan P3(40%) mengalami peningkatan namun secara statistik tidak memiliki perbedaan yang signifikan diduga karena pada dosis 40%, terdapat kapasitas absorpsi kulit

yang dapat menyebabkan perubahan struktur membrane sebagai akibat konsentrasi yang terlalu tinggi, dan dapat pula terjadi perubahan koefisien partisi antara pembawa dan sawar kulit sehingga zat aktif tidak dapat terabsorpsi sempurna dan efeknya terhadap peningkatan jumlah kolagen tipe I tidak maksimal (Hotary,2000).

Penelitian ini menggunakan ekstrak ubi ungu dalam bentuk krim yang diberikan secara topikal. Penelitian sebelumnya menggunakan ekstrak air ubi ungu yang diberikan secara oral menunjukkan bahwa ekstrak air ubi ungu tersebut dapat menghambat MMP-1 (Yudiono,2011). Pada penelitian sebelumnya didapatkan rerata ekspresi MMP-1 pada kelompok kontrol ( $0,362 \pm 0,077$ ) dan rerata kelompok perlakuan ( $0,280 \pm 0,028$ ) (Yudiono,2011). Hal tersebut berarti prosentasi penurunan ekspresi MMP-1 hanya sekitar 22%. Sedangkan pada penelitian ini rerata ekspresi MMP-1 pada kelompok kontrol ( $40,16 \pm 4,62$ ) dan rerata pada kelompok P3 ( $18,50 \pm 2,42$ ) yang berarti prosentase penurunan ekspresi MMP-1 sebesar 54%. Penelitian menggunakan ekstrak ubi ungu secara topikal menunjukkan penurunan ekspresi MMP-1 lebih besar daripada yang ditunjukkan pada penelitian yang menggunakan ekstrak air ubi ungu.

### Simpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa bahwa terdapat pengaruh pemberian krim ekstrak ubi ungu terhadap penurunan Ekspresi Matriks Metalloproteinase-1 dan Peningkatan Jumlah Kolagen Dermis Tipe-I dan Tipe-III pada mencit BALB/c yang dipapar sinar UV-B

### Pendanaan

Penelitian ini dilakukan tanpa bantuan hibah manapun.

### Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian

### Ucapan Terima Kasih

Alhamdulillah, puji syukur kepada Allah SWT. orang tua, keluarga, guru-guru peneliti,

## DAFTAR PUSTAKA

1. Karlsten A, Retterstøl L, Laake P, et al. Anthocyanins inhibit nuclear factor-kappaB activation in monocytes and reduce plasma concentrations of pro-inflammatory mediators in healthy adults. *J Nutr.* 2007;137(8):1951–1954. doi:papers3://publication/uuid/829A150F-976C-4854-98D1-D5D9F1DD7B25.
2. Thappa D, Durai P, Kumari R, Malathi M. Aging in elderly: Chronological versus photoaging. *Indian J Dermatol.* 2012;57(5):343. doi:10.4103/0019-5154.100473.
3. Yaar M, Gilchrist BA. Aging of skin. In: *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine.* ; 2012.
4. Baumann LS. The baumann skin typing system. In: *Textbook of Aging Skin.* ; 2010:929–943. doi:10.1007/978-3-540-89656-2\_88.
5. Peres PS, Terra VA, Guarnier FA, Cecchini R, Cecchini AL. Photoaging and chronological aging profile: Understanding oxidation of the skin. *J Photochem Photobiol B Biol.* 2011;103(2):93–97. doi:10.1016/j.jphotobiol.2011.01.019.
6. Nichols JA, Katiyar SK. Skin photoprotection by natural polyphenols: Anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. *Arch Dermatol Res.* 2010;302(2):71–83. doi:10.1007/s00403-009-1001-3.
7. Timares L, Katiyar SK, Elmets C a. DNA damage, apoptosis and langerhans cells--Activators of UV-induced immune tolerance. *Photochem Photobiol.* 2008;84(2):422–436. doi:10.1111/j.1751-1097.2007.00284.x.
8. Dirjen POM RI. *Farmakope Indonesia edisi IV.*; 2009. doi:10.1590/S1984-82502011000100002.
9. Soehartati. *Sixth Biggest Cancer Causes Death in Indonesia.* Jakarta; 2011.
10. Quan T, Qin Z, Xia W, Shao Y, Voorhees JJ, Fisher GJ. Matrix-degrading metalloproteinases in photoaging. In: *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings.* Vol 14. ; 2009:20–24. doi:10.1038/jidsymp.2009.8.
11. Yang SH, Sharrocks AD, Whitmarsh AJ. MAP kinase signalling cascades and transcriptional regulation. *Gene.* 2013;513(1):1–13. doi:10.1016/j.gene.2012.10.033.

12. Yarosh D, Dong K, Smiles K. UV-induced degradation of collagen I is mediated by soluble factors released from keratinocytes. In: *Photochemistry and Photobiology*. Vol 84. ; 2008:67–68. doi:10.1111/j.1751-1097.2007.00230.x.
13. Portugal-Cohen M, Soroka Y, Frušić-Zlotkin M, et al. Skin organ culture as a model to study oxidative stress, inflammation and structural alterations associated with UVB-induced photodamage. *Exp Dermatol*. 2011;20(9):749–755. doi:10.1111/j.1600-0625.2011.01317.x.
14. Dams SD, De Liefde-van Beest M, Nuijs AM, Oomens CWJ, Baaijens FPT. Heat shocks enhance procollagen type I and III expression in fibroblasts in ex vivo human skin. *Ski Res Technol*. 2011;17(2):167–180. doi:10.1111/j.1600-0846.2010.00473.x.
15. Amend JP, LaRowe DE, McCollom TM, Shock EL. The energetics of organic synthesis inside and outside the cell. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2013;368(1622):20120255–20120255. doi:10.1098/rstb.2012.0255.
16. Yin R. Skin aging and photoaging. In: *Skin Photoaging*. ; 2014. doi:10.1088/978-1-6270-5455-3ch1.
17. Sulastri, Erlidawati, Nazar M, Andayani T. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Ubi Jalar Ungu ( Ipomea batatas L .) hasil budidaya daerah Saree Aceh Besar. *J Rekayasa Kim dan Lingkungan*. 2013;9(3):125–130.
18. Dipahayu,D.,Soeratri,W.,Agil M. Formulasi Krim Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Ungu (Ipomoea Batatas (L) Lamk) Sebagai Anti Aging. *Pharm Sci Res ISSN 2407-2354*. 2013:166–178.
19. Redha A. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *J Berlin*. 2010;9(2):196–202. doi:10.1186/2110-5820-1-7.
20. Shin,MH,Rhie.,Kyung Kim Y.,Park, C, Cho, KH, Kim, KH.,Eun HC. CJ. H2O2 Accumulation by catalase reduction changes MAP kinase signaling in aged Human skin in vivo. *J Invest Dermatol*. 2005;125:221–229.
21. Pinnell SR. Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. *J Am Acad Dermatol*. 2003;48(1):1–19. doi:10.1067/mjd.2003.16.
22. Page-McCaw A, Ewald AJ, Werb Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8(3):221–233. doi:10.1038/nrm2125.
23. Seltzer, J.L.,Eisen AZ. *The Role of Extracellular Matrix Metalloproteinase in Connective Tissue Remodelling*. (Fitzpatrick T.B. et al, ed.). Mc Graw-Hill book co; 2008.
24. Uitto J, Cho M., Gallo R.& Eisen A. Collagen, elastic fibers and extracellular matrix of the demis. In: Wolff, K., Goldsmith, L., Katz, S., Gilchrest, B., Paller, A.&Leffel D (Eds., ed. 7th ed. New York: McGraw-Hill; 2008.
25. Yaar M, Gilchrest BA. Photoageing: Mechanism, prevention and therapy. *Br J Dermatol*. 2007;157(5):874–887. doi:10.1111/j.1365-2133.2007.08108.x.
26. Pittayapruerk P, Meephansan J, Prapapan O, Komine M, Ohtsuki M. Role of matrix metalloproteinases in Photoaging and photocarcinogenesis. *Int J Mol Sci*. 2016;17(6). doi:10.3390/ijms17060868.
27. Quan T, He T, Kang S, Voorhees JJ, Fisher GJ. Solar ultraviolet irradiation reduces collagen in photoaged human skin by blocking transforming growth factor-beta type II receptor/Smad signaling. *Am J Pathol*. 2004;165(3):741–751. doi:10.1016/S0002-9440(10)63337-8.
28. Yano H, Hamanaka R, Nakamura M, Sumiyoshi H, Matsuo N, Yoshioka H. Smad, but not MAPK, pathway mediates the expression of type I collagen in radiation induced fibrosis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012;418(3):457–463. doi:10.1016/j.bbrc.2012.01.039.
29. Chattopadhyay S, Raines RT. Review collagen-based biomaterials for wound healing.

- Biopolymers*. 2014;101(8):821–833. doi:10.1002/bip.22486.
30. Belsky DW, Caspi A, Houts R, et al. Quantification of biological aging in young adults. *Proc Natl Acad Sci*. 2015;112(30):E4104–E4110. doi:10.1073/pnas.1506264112.
  31. Yin R, Chen Q, Hamblin MR. *Skin photoaging*; 2015. doi:10.1088/978-1-6270-5455-3.
  32. Pangkahila W. *Anti Aging Medicine Memperlambat Penuaan Meningkatkan Kualitas Hidup*. Jakarta: Penerbit Buku Kompas; 2008.
  33. Wasitaatmadja S. *Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin-Anatomi dan Faal Kulit*. 5 ed. (Djuanda,A.,Hamzah,M.,Aisah S, ed.). Jakarta: Balai Penerbit FK UI; 2008.
  34. Viña J, Borras C, Abdelaziz KM, Garcia-Valles R, Gomez-Cabrera MC. The Free Radical Theory of Aging Revisited: The Cell Signaling Disruption Theory of Aging. *Antioxid Redox Signal*. 2013;19(8):779–787. doi:10.1089/ars.2012.5111.
  35. DeBalsi KL, Hoff KE, Copeland WC. Role of the mitochondrial DNA replication machinery in mitochondrial DNA mutagenesis, aging and age-related diseases. *Ageing Res Rev*. 2017;33:89–104. doi:10.1016/j.arr.2016.04.006.
  36. Park DC, Yeo SG. Aging. *Korean J Audiol*. 2013;17(2):39–44. doi:10.7874/kja.2013.17.2.39.
  37. Eckes B, Krieg T, Niessen CM. Biology of the skin. In: *Therapy of Skin Diseases: A Worldwide Perspective on Therapeutic Approaches and Their Molecular Basis*. ; 2010:3–14. doi:10.1007/978-3-540-78814-0\_1.
  38. Oh JH, Kim YK, Jung JY, et al. Intrinsic aging- and photoaging-dependent level changes of glycosaminoglycans and their correlation with water content in human skin. *J Dermatol Sci*. 2011;62(3):192–201. doi:10.1016/j.jdermsci.2011.02.007.
  39. Xu Y, Fisher GJ. Ultraviolet (UV) light irradiation induced signal transduction in skin photoaging. *J Dermatological Sci Suppl*. 2005;2 SUPPL.(1). doi:10.1016/j.descs.2006.08.001.
  40. Weston CR, Davis RJ. The JNK signal transduction pathway. *Curr Opin Cell Biol*. 2007;19(2):142–149. doi:10.1016/j.ceb.2007.02.001.
  41. Panich U, Sittithumcharee G, Rathviboon N, Jirawatnotai S. Ultraviolet radiation-induced skin aging: The role of DNA damage and oxidative stress in epidermal stem cell damage mediated skin aging. *Stem Cells Int*. 2016;2016. doi:10.1155/2016/7370642.
  42. Watson REB, Gibbs NK, Griffiths CEM, Sherratt MJ. Damage to Skin Extracellular Matrix Induced by UV Exposure. *Antioxid Redox Signal*. 2014;21(7):1063–1077. doi:10.1089/ars.2013.5653.
  43. Gilchrest BA. Photoaging. *J Invest Dermatol*. 2013;133(E1). doi:10.1038/jid.2013.2.
  44. Damian DL, Matthews YJ, Phan TA, Halliday GM. An action spectrum for ultraviolet radiation-induced immunosuppression in humans. *Br J Dermatol*. 2011;164(3):657–659. doi:10.1111/j.1365-2133.2010.10161.x.
  45. Bodekær M, Philipsen PA, Karlsmark T, Wulf HC. Good agreement between minimal erythema dose test reactions and objective measurements: An in vivo study of human skin. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2013;29(4):190–195. doi:10.1111/phpp.12049.
  46. Halliday GM, Byrne SN, Damian DL. Ultraviolet A Radiation: Its Role in Immunosuppression and Carcinogenesis. *Semin Cutan Med Surg*. 2011;30(4):214–221. doi:10.1016/j.sder.2011.08.002.
  47. Tornatore L, Thotakura AK, Bennett J, Moretti M, Franzoso G. The nuclear factor kappa B signaling pathway: Integrating metabolism with inflammation. *Trends Cell*



- Biol.* 2012;22(11):557–566. doi:10.1016/j.tcb.2012.08.001.
48. Ocvita S. Pengaruh Krim Ekstrak Kacang Kedelai Terhadap Matriks Metalloproteinase-1 dan Rasio Kolagen Tipe I, Tipe III. 2017.
  49. Husna N El, Novita M, Rohaya S. Anthocyanins Content and Antioxidant Activity of Fresh Purple Fleshed Sweet Potato and Selected Products. *Agritech.* 2013;33(3):296–302. doi:10.22146/agritech.9551.
  50. McLafferty E, Hendry C, Farley A. The integumentary system: anatomy, physiology and function of skin. *Nurs Stand.* 2012;27(3):35–42. doi:10.7748/ns2012.09.27.3.35.c9299.
  51. Waluyo B, Istifadah N, Ruswandi D, Karuniawan A. Karakteristik umbi dan kandungan kimia ubi jalar untuk mendukung penyediaan bahan pangan dan bahan baku industri. In: *Prosiding Seminar Nasional 3 in One Hortikultura, Agronomi dan Pemuliaan Tanaman: Peran Nyata Hortikultura, Agronomi dan Pemuliaan Tanaman terhadap Ketahanan Pangan 21 Agustus 2013.* ; 2013:373–385.
  52. Shipp J, Abdel-Aal E-SM. Food Applications and Physiological Effects of Anthocyanins as Functional Food Ingredients. *Open Food Sci J.* 2010;4:7–22. doi:10.2174/1874256401004010007.
  53. Wrolstad RE. Anthocyanin Pigments-Bioactivity and Coloring Properties. *J Food Sci.* 2006;69(5):C419–C425. doi:10.1111/j.1365-2621.2004.tb10709.x.
  54. Wang L-S, Stoner GD. Anthocyanins and their role in cancer prevention. *Cancer Lett.* 2008;269(2):281–290. doi:10.1016/j.canlet.2008.05.020.
  55. Spormann TM, Albert FW, Rath T, et al. Anthocyanin/Polyphenolic-Rich Fruit Juice Reduces Oxidative Cell Damage in an Intervention Study with Patients on Hemodialysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(12):3372–3380. doi:10.1158/1055-9965.Epi-08-0364.
  56. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci.* 2008;4(2):89–96. doi:10.1073/pnas.0804252105.
  57. Palmer DM, Kitchin JS. Oxidative damage, skin aging, antioxidants and a novel antioxidant rating system. *J Drugs Dermatol.* 2010;9(1):11–15. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20120419>.
  58. Stojiljković D, Pavlović D, Arsić I, Stojiljković@bullet D. Oxidative Stress, Skin Aging and Antioxidant Therapy. *Sci J Fac Med Niš.* 2014;31(208):207–217. doi:10.2478/afmnai-2014-0026.
  59. Bobinait R, Viškeliš P, Venskutonis PR. Variation of total phenolics, anthocyanins, ellagic acid and radical scavenging capacity in various raspberry (*Rubus* spp.) cultivars. *Food Chem.* 2012;132(3):1495–1501. doi:10.1016/j.foodchem.2011.11.137.
  60. Dewi LR, Laksmani NPL, Paramita NLP V, Wirasuta IMAG. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) dengan Metode Ferrous Ion Chelating (FIC). *J Farm Udayana.* 2014;3(1):14–17. <http://id.portalgaruda.org/?ref=browse&mod=viewarticle&article=265569>.
  61. Hideg É, Jansen MAK, Strid Å. UV-B exposure, ROS, and stress: Inseparable companions or loosely linked associates? *Trends Plant Sci.* 2013;18(2):107–115. doi:10.1016/j.tplants.2012.09.003.
  62. Robins SP, Brady JD. Collagen Cross-Linking and Metabolism. In: *Principles of Bone Biology, Two-Volume Set. Vol 1.* ; 2008:319–334. doi:10.1016/B978-0-12-373884-4.00035-5.
  63. Brohem CA, Da Silva Cardeal LB, Tiago M, Soengas MS, De Moraes Barros SB, Maria-Engler SS. Artificial skin in perspective: Concepts and applications. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2011;24(1):35–50. doi:10.1111/j.1755-148X.2010.00786.x.
  64. Sayuti, K., Yenrina R. *Antioksidan Alami dan Sintetik. I.* (Anggraini T, ed.). Padang:

- Andalas University Press; 2015.
65. Dahlan MS. Statistik Deskriptif. In: *Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan: Deskriptif, Bivariat, dan Multivariat Dilengkapi Aplikasi Menggunakan SPSS.* ; 2014:47–89.
  66. Isolation ENP, Maserasi M. Metode Ekstraksi. *J Chem Inf Model.* 2013;53:1689–1699. doi:10.1017/CBO9781107415324.004.
  67. Fischer AH, Jacobson KA, Rose J, Zeller R. Paraffin embedding tissue samples for sectioning. *Cold Spring Harb Protoc.* 2008;3(5). doi:10.1101/pdb.prot4989.
  68. Taylor C. Introduction to Immunohistochemistry. *Immunohistochem Stain Methods Educ Guid.* 2014:2014. doi:10.2307/2077150.
  69. Goldstein M, Watkins S. Immunohistochemistry. *Curr Protoc Mol Biol.* 2008;Chapter 14(January):Unit 14.6. doi:10.1002/0471142727.mb1406s81.
  70. Hofman FM, Taylor CR. Immunohistochemistry. *Curr Protoc Immunol.* 2013;(SUPPL.103). doi:10.1002/0471142735.im2104s103.
  71. Gudono. Desain Eksperimen Dengan Satu Faktor. In: *Analisis Data Riset Eksperimen. Pertama.* Yogyakarta: BPFY-Yogyakarta; 2017:43–67.
  72. Wlaschek M, Ma W, Jansen-Dürr P, Scharffetter-Kochanek K. Photoaging as a consequence of natural and therapeutic ultraviolet irradiation - Studies on PUVA-induced senescence-like growth arrest of human dermal fibroblasts. *Exp Gerontol.* 2003. doi:10.1016/j.exger.2003.09.006.
  73. Sliwowski. Matrixmetalloproteinases-biochemical characteristics and clinical value determination in breast cancer patient. *ContempOncol.* 2005;8:237.
  74. Yan Y, Wang B, Zuo Y-G, Qu T. Inhibitory effects of mizolastine on ultraviolet B-induced leukotriene B4 production and 5-lipoxygenase expression in normal human dermal fibroblasts in vitro. *Photochem Photobiol.* 2006. doi:10.1562/2005-08-17-RA-652.
  75. Twining SS. Regulation of proteolytic activity in tissues. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 1994. doi:10.3109/10409239409083484.
  76. Hotary K, Allen E, Punturieri A, Yana I, Weiss SJ. Regulation of cell invasion and morphogenesis in a three-dimensional type I collagen matrix by membrane-type matrix metalloproteinases 1, 2, and 3. *J Cell Biol.* 2000. doi:10.1083/jcb.149.6.1309.
  77. Załuski D, Smolarz HD. Plant inhibitors of metalloproteinases and the possibility of their application in the prevention of photoaging. *Ann Univ Mariae Curie-Sklodowska, Sect DDD Pharm.* 2009. doi:10.2478/v10080-008-0184-9.
  78. Jenkins G. Molecular mechanisms of skin ageing. *Mech Ageing Dev.* 2002;123(7):801–810. doi:10.1016/S0047-6374(01)00425-0.
  79. Hosseini M, Mahfouf W, Serrano-Sanchez M, et al. Premature Skin Aging Features Rescued by Inhibition of NADPH Oxidase Activity in XPC-Deficient Mice. *J Invest Dermatol.* 2015. doi:10.1038/jid.2014.511.
  80. Fisher GJ, Wang Z, Datta SC, Varani J, Kang S, Voorhees JJ. Pathophysiology of Premature Skin Aging Induced by Ultraviolet Light. *N Engl J Med.* 1997. doi:10.1056/NEJM199711133372003.
  81. Draelos ZD. *Cosmetic Dermatology: Products and Procedures.*; 2010. doi:10.1002/9781444317657.
  82. Baumann L, Woolery-Lloyd H, Friedman A. “Natural” ingredients in cosmetic dermatology. *J Drugs Dermatology.* 2009.
  83. Lovell CR, Smolenski K a, Duance VC, Light ND, Young S, Dyson M. Type I and III collagen content and fibre distribution in normal human skin during ageing. *Br J Dermatol.* 1987;117(4):419–428. doi:10.1111/j.1365-2133.1987.tb04921.x.

84. Susana T. Pemberian Ekstrak Air Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas*) Menghambat Penuaan Dini Kulit Dengan Menghambat Kadar MMP-1 Pada Tikus Yang Dipajan Sinar UV-B. 2011:72–83.